ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1975 N° 26

ÉTUDE DU MÉTABOLISME DE L'ION SULFATE MARQUÉ AU SOUFRE 35 CHEZ LA SOURIS

PAR LES TECHNIQUES AUTORADIOGRAPHIQUES

THÈSE POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
(DIPLOME D'ÉTAT)

présentée et soutenue publiquement
devant
L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

Patrick, Jean, Francis, Alain BENARD
NÉ LE 27 JUILLET 1947, A MÉRIGNAC (GIRONDE)

JURY
Président : M. DOUSTE-BLAZY, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.
Assesseurs : M. RICO, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
M. GODFRAIN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

IMPRIMERIE M. ESPIC
13, RUE GONZALEZ, TOULOUSE
1975

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

ÉTUDE DU MÉTABOLISME DE L'ION SULFATE MARQUÉ AU SOUFRE 35 CHEZ LA SOURIS

PAR LES TECHNIQUES AUTORADIOGRAPHIQUES

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549604_0033

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1975 N° 26

ÉTUDE DU MÉTABOLISME DE L'ION SULFATE MARQUÉ AU SOUFRE 35 CHEZ LA SOURIS

PAR LES TECHNIQUES AUTORADIOGRAPHIQUES

THÈSE POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

présentée et soutenue publiquement

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

Patrick, Jean, Francis, Alain BENARD

NÉ LE 27 JUILLET 1947, A MÉRIGNAC (GIRONDE)

JURY

Président : M. DOUSTE-BLAZY, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Assesseurs : M. RICO, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

M. GODFRAIN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

IMPRIMERIE M. ESPIC

13, RUE GONZALEZ, TOULOUSE

1975

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

DIRECTEUR. . . . . MM. LAUTIÉ
DIRECTEURS HONORAIRES. . . . . PONS, FLORIO
PROFESSEUR HONORAIRE. . . . . LOMBARD

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie et Toxicologie.

Professeur titulaire. . . . . M. **Godfrain**
Maître-Assistant Agrégé . . . . Mme **Burgat-Sacaze**

Pharmacie et Toxicologie

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Rico**
Maître-Assistant . . . . . **Braun**

Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques.

Professeur titulaire. . . . . M. **Pavaux**

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

Chaire de Physiologie et Thérapeutique.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Ruckebusch**
Maître de Conférences, non
Chef de Service. . . . . **Fargeas**
Maître-Assistant . . . . . **Toutain**

Physiologie - Thérapeutique et Pharmacodynamie

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Van Haverbeke**
Professeur sans Chaire. . . . . **Cabanié**
Maître-Assistant Agrégé . . . . **Magnol**

Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Labie**
Maître-Assistant. . . . . **Eeckhoutte**
Maître-Assistant . . . . . Mme **Benard**

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des Denrées alimentaires d'origine animale

Chaire de Parasitologie et Maladies Parasitaires.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Brizard**
Maître de Conférences non
Chef de Service. . . . . **Dorchies**

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

Chaire de Séméiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Florio**
Professeur sans Chaire. . . . . **Lescure**
Maître-Assistant Agrégé . . . . **Guelfi**

Séméiologie et Pathologie Médicale
des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie - Clinique

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Tournut**
Professeur sans Chaire. . . . . **Espinasse**
Maître-Assistant. . . . . **Bézille**

Séméiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de basse-cour - Clinique
Clinique ambulatoire

Chaire de Pathologie Chirurgicale.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Cazieux**
Maître-Assistant . . . . . **Dickelé**
Maître-Assistant . . . . . **Genevois**

Propédeutique et Séméiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale

Chaire de Pathologie de la Reproduction.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Berthelon**
Professeur sans Chaire. . . . . **Royal**
Maître-Assistant. . . . . **Tainturier**

Séméiologie et Propédeutique
Pathologie de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

Chaire de Maladies Contagieuses - Zoonoses Législation Sanitaire.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Saurat**
Maître de Conférences non
Chef de Service. . . . . **Chantal**
Maître-Assistant . . . . . **Ganière**

Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

Chaire de Pathologie générale - Microbiologie Immunologie.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Lautié**
Maître-Assistant. . . . . **Meignier**

Microbiologie - Immunologie - Pathologie générale

Chaire de Zootechnie et Economie Rurale.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Queinnec**
Maître-Assistant. . . . . **Darré**

Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène générale
Zootechnie - Elevage
Economie générale et des Productions animales

Chaire d'Alimentation.

Professeur titulaire. . . . . MM. **Faliu**
Professeur sans chaire . . . . . **Griess**
Maître-Assistant . . . . . **Paragon**

Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

COURS COMPLEMENTAIRES — CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs **Angelier, Armengaud, Bazex, Benquet, Blanc, Bourbon, Candau, Chanchus, Combes, Combret, Fernet, Lagarrigue, Larrouy, Monier, Rives.**

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats
(Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924)

A MES PARENTS

A MON ÉPOUSE

A MES AMIS

A NOTRE JURY DE THÈSE :

Monsieur le Professeur DOUSTE-BLAZY

Monsieur le Professeur A. G. RICO

Monsieur le Professeur J. C. GODFRAIN

A Monsieur le Professeur G. LORGUE

A Madame V. BURGAT-SACAZE

A Monsieur J. P. BRAUN

PLAN

Introduction.

LES TECHNIQUES AUTORADIOGRAPHIQUES.

1. — Définition.

2. — Historique.

3. — Le processus photographique en autoradiographie.
   - 31 — Généralités.
   - 32 — Théorie de la formation des images.

4. — Technique.
   - 41 — Principe.
   - 42 — Autoradiographie macroscopique.
   - 43 — Autoradiographie microscopique ou autohistoradiographie.
     - 431 — Préparation des lames.
     - 432 — Réalisation des coupes.
     - 433 — Dépôt de l'émulsion.
       - 4331 — Les émulsions pelliculables.
       - 4332 — Les émulsions liquides.
     - 434 — Révélation - fixation.
     - 435 — Coloration.

5. — La résolution en autoradiographie.
   - 51 — Définition.
   - 52 — Expression mathématique.
   - 53 — Facteurs intervenant dans la résolution.

ÉTUDE DU MÉTABOLISME DE L'ION SULFATE MARQUÉ AU SOUFRE 35.

1. — Protocole expérimental.
   - 11 — Les animaux.
   - 12 — Administration du produit.
     - 121 — Le produit :
       - — caractéristiques du soufre 35,
       - — la molécule marquée.
     - 122 — Mode d'administration.

2. — Résultats.

21 — Durée d'élimination — Organes de concentration.

211 — Chez l'animal adulte.

2111 — Administration par voie veineuse.

2112 — Autres voies d'administration.

212 — Chez des jeunes en fonction de l'âge.

213 — Chez des animaux ayant ingéré de fortes teneurs de sulfate de sodium.

22 — Répartition au moment de la gestation.

221 — Répartition chez la femelle gestante.

222 — Répartition chez des jeunes nés d'une mère ayant reçu une injection de sulfate marqué.

23 — Répartition à l'échelle cellulaire.

3. — Interprétation — Discussion.

31 — Les techniques employées.

32 — Les résultats de notre étude.

321 — Durée d'élimination — Organes de concentration.

322 — Etude menée chez des femelles gestantes.

Conclusion.

Résumé.

Bibliographie.

INTRODUCTION

Ce travail a été réalisé au laboratoire de radioéléments et d'études métaboliques de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, dirigé par le Professeur A. G. Rico.

Nous l'avons entrepris en 1969. A cette époque, un certain nombre de travaux étaient en cours et portaient sur la détermination des secteurs hydriques chez plusieurs espèces [208]. Pour l'évaluation du secteur extracellulaire, de nombreux auteurs ont employé l'ion sulfate marqué au soufre 35, suivant l'idée de Walser [258-259]. Si cette détermination semble satisfaisante chez quelques animaux monogastriques, Agasse [1] a montré que chez les ovins, les résultats étaient fort disparates.

Il nous a donc paru intéressant d'essayer de préciser le métabolisme de cet anion chez la souris. Dans un premier temps, nous avons effectué une étude qualitative par autoradiographie, ce qui nous a permis de mettre au point les différentes techniques. Nous avons ensuite employé la technique classique de scintillation liquide en vue d'une étude quantitative actuellement en cours.

Nous ne présenterons ici que les résultats obtenus par les techniques autoradiographiques.

LES TECHNIQUES AUTORADIOGRAPHIQUES

1. — Définition :

L'autoradiographie est une technique de détection et éventuellement de dosage des radioisotopes contenus dans un milieu, par impression d'une émulsion photographique, conséquence de l'émission de leur rayonnement.

2. — Historique :

Il est curieux de constater que la propriété qu'ont les rayonnements d'isotopes radioactifs, d'impressionner les émulsions photographiques, fut découverte bien avant que l'on aît eu conscience de l'existence même du phénomène de la radioactivité.

C'est en effet en 1867, que Niepce de Saint-Victor [188] publie une note dans laquelle il relate l'observation d'un noircissement d'émulsions de chlorure et d'iodure d'argent, par le nitrate et le tartrate d'uranium. Constatant que ce noircissement se produisait même après avoir intercalé des plaques de verre de différentes couleurs, il conclut à un phénomène de « luminescence ».

En 1896, H. Becquerel [12-13-14-15-16-17] reprend cette expérimentation et, voulant étudier le mécanisme de fluorescence de plusieurs substances, montre que des cristaux de sulfate double

d'uranium et de potassium, posés sur une émulsion photographique conservée dans une enveloppe étanche à la lumière, l'impressionnent même si l'on interpose des objets. Il déduisit que la substance émet des radiations qui traversent le papier opaque à la lumière et réduisent les sels d'argent : H. BECQUEREL venait de découvrir la radioactivité ainsi que le premier détecteur de particules.

En 1898, P. et M. CURIE, puis en 1899, RUTHERFORD précisent ce phénomène de la radioactivité [26].

Pendant vingt-cinq années ces résultats sont délaissés.

En 1924, A. LACASSAGNE et S. LATTES [145] étudient la répartition du polonium dans les tissus de lapin : c'est la première étude de détection systématique d'un isotope par les techniques photographiques.

Ce n'est qu'après 1945, que l'autoradiographie connaîtra son plein essor. Physiciens et biologistes mettent au point des émulsions plus spécifiques permettant de meilleures résolutions.

En 1946, BÉLANGER et LEBLOND [18-19-20] introduisent les émulsions liquides et vers 1950, les établissements Kodak-Pathé à la suite des conseils éclairés de PELC [197-198-199] entreprennent la fabrication d'émulsions pelliculables ou « stripping film ».

En 1954, grâce à un pharmacologue vétérinaire suédois, le Professeur S. ULLBERG [256-257] les techniques autoradiographiques sont largement introduites en pharmacologie et dans le domaine des études métaboliques, où elles connaîtront un succès remarquable.

En 1956, J. LIQUIER-MILWARD publie pour la première fois, les résultats d'études autoradiographiques effectuées en microscopie électronique.

3. — Le processus photographique en autoradiographie :

31 — *Généralités :*

Ce que nous appelons émulsion n'est en fait qu'une suspension solide de petits cristaux de bromure d'argent (Ag Br) dans de la gélatine purifiée. L'unité radiosensible est donc constituée par ces cristaux, la gélatine n'ayant qu'un rôle de soutien.

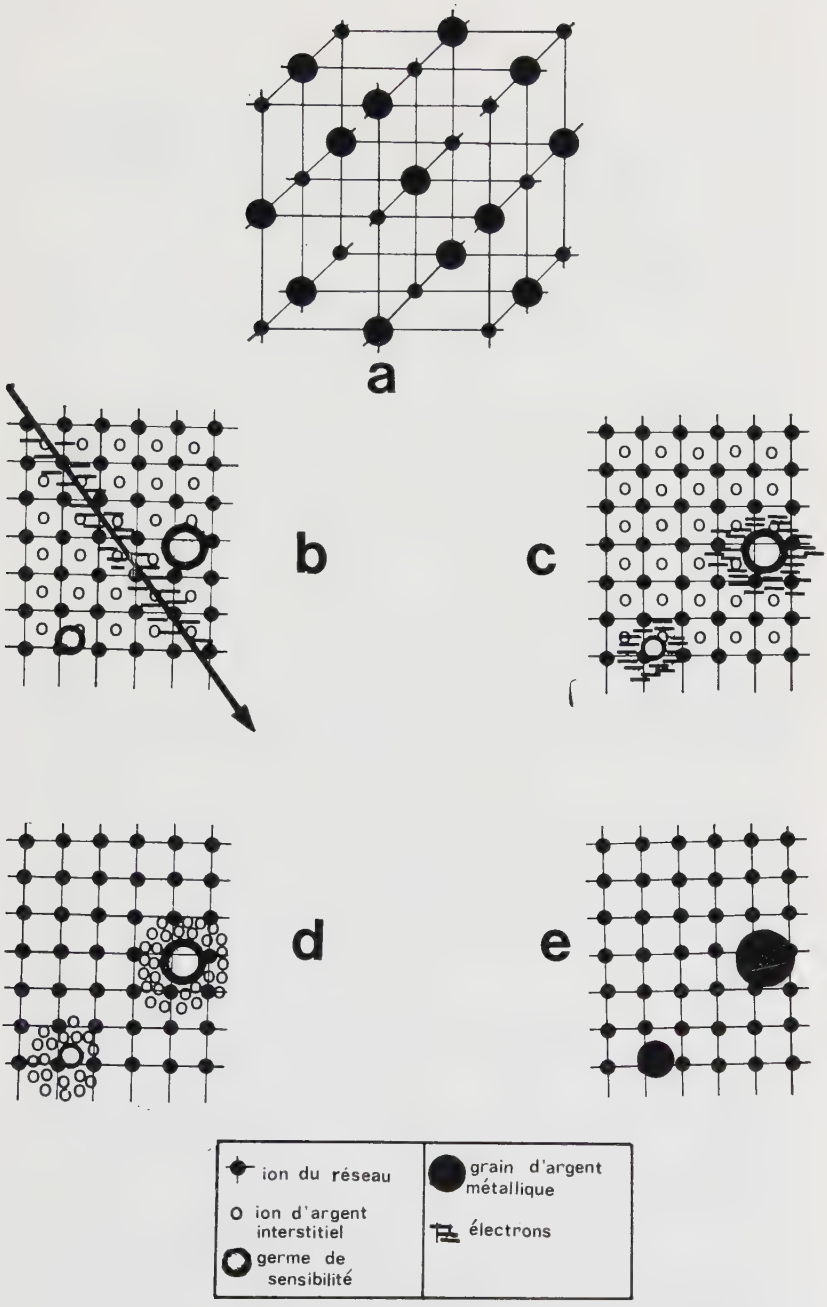


Figure 1 : théorie de la formation de l'image en autoradiographie, *d'après Loiseleur, (162)*

Du fait de la perméabilité de la gélatine à l'eau, elle est aisément traversée par les liquides de révélation et de fixation qui accèdent ainsi aux cristaux sans les déplacer notablement.

32 — *Théorie de la formation des images :*

Le bromure d'argent cristallise en réseaux ioniques cubiques, les ions d'argent étant entourés par six ions bromure et réciproquement (*fig.* 1 a).

La lumière ne produit pas d'images dans un système cristallin parfait. Des « défauts » doivent exister dans cette architecture cristalline et sont indispensables pour la photosensibilité d'une émulsion. Ces défauts, appelés « sensitivity specks » — germes de sensibilité — sont régulièrement disséminés dans le réseau cristallin.

Le processus de formation de l'image latente, peut être expliqué par la théorie de Gurnett et Mote (1938).

La lumière, frappant une émulsion, donc un cristal de bromure d'argent, élève l'énergie d'un électron périphérique d'un ion bromure, de telle sorte qu'il quitte son orbite. L'ion bromure devient de ce fait un atome de brome. Cet électron libéré (*fig.* 1 b), traverse de proche en proche le cristal dans une bande de conductivité, jusqu'à ce qu'il soit capté par un des germes de sensibilité qui ont des niveaux de conductivité plus faibles (*fig.* 1 c). A ce stade, un ion argent est transformé en atome d'argent, par attraction électrostatique (*fig.* 1 d). L'image latente dans le cristal résulte donc de la présence d'un certain nombre d'atomes d'argent (*fig.* 1 e).

Durant le développement de l'émulsion, ces atomes d'argent catalysent les réactions de transformation du cristal en argent métallique. Les cristaux de bromure qui n'auront pas été réduits seront dissous et éliminés de l'émulsion lors de la fixation.

A la fin de la fixation, on aura un certain nombre de grains d'argent qui reproduisent exactement le point d'impact de la lumière sur l'émulsion.

Ce raisonnement établi pour la lumière du jour, peut être appliqué au cas des radiations ionisantes à la différence près que les électrons libérés initialement dans le cristal tirent leur énergie d'activation du passage de la particule, à travers le cristal et non des photons de la lumière incidente.

4. — **Technique :**

41 — *Principe :*

L'animal entier (autoradiographie macroscopique) ou certains de ses tissus (autohistoradiographie), après administration du produit marqué, sont coupés en tranches qui sont apposées sur des émulsions, et pressées contre elles.

42 — *Autoradiographie macroscopique :*

Les coupes ont été réalisées sur des animaux entiers. La technique utilisée s'inspire de celle mise au point par ULLBERG en 1954 [256-257] modifiée par COHEN et DELASSUE en 1959 [53] reprise par ROGERS en 1969 [216], GAHAN en 1972 [94].

A la différence de ces auteurs et pour des raisons techniques évidentes, nous avons supprimé l'enceinte dans laquelle se trouvait le microtome et où régnait une basse température [210].

Nous effectuons donc les coupes à la température du laboratoire, ce qui demande une plus grande vitesse d'exécution.

Au temps choisi pour l'expérimentation, la souris anesthésiée à l'éther est congelée par immersion dans un bain réfrigérant (alcool-glace carbonique), (température de — 65°C environ) (*fig.* 2 a).

Après une demi-heure, l'animal est grossièrement paré à l'aide d'un couteau, afin d'arriver directement au niveau anatomique désiré, soit en ce qui nous concerne, les reins droit et gauche (*fig.* 2 b). La souris est alors fixée sur la platine d'un microtome à congélation par dispositif automatique de réfrigération (Cryotome Leitz 1 300 K). La platine et le rasoir sont maintenus à la température de — 30 °C par thermostatisation. L'animal est fixé sur la platine à l'aide de coton solidifié par de l'eau congelée (*fig.* 2 c).

On passe sur la surface de coupe, un tampon de coton imbibé d'éther de pétrole afin d'éliminer tout phénomène de givrage. On colle immédiatement après un ruban d'acétate de cellulose (*fig.* 2 d) (Scotch Minnesota Mining and Manufacturing), puis on effectue la coupe (*fig.* 2 e).

Celle-ci est recueillie sur son support de papier collant, lequel est retourné et collé par ses extrémités sur une lame de verre (*fig.* 2 f); le tout est porté dans une enceinte froide (— 30 °C)

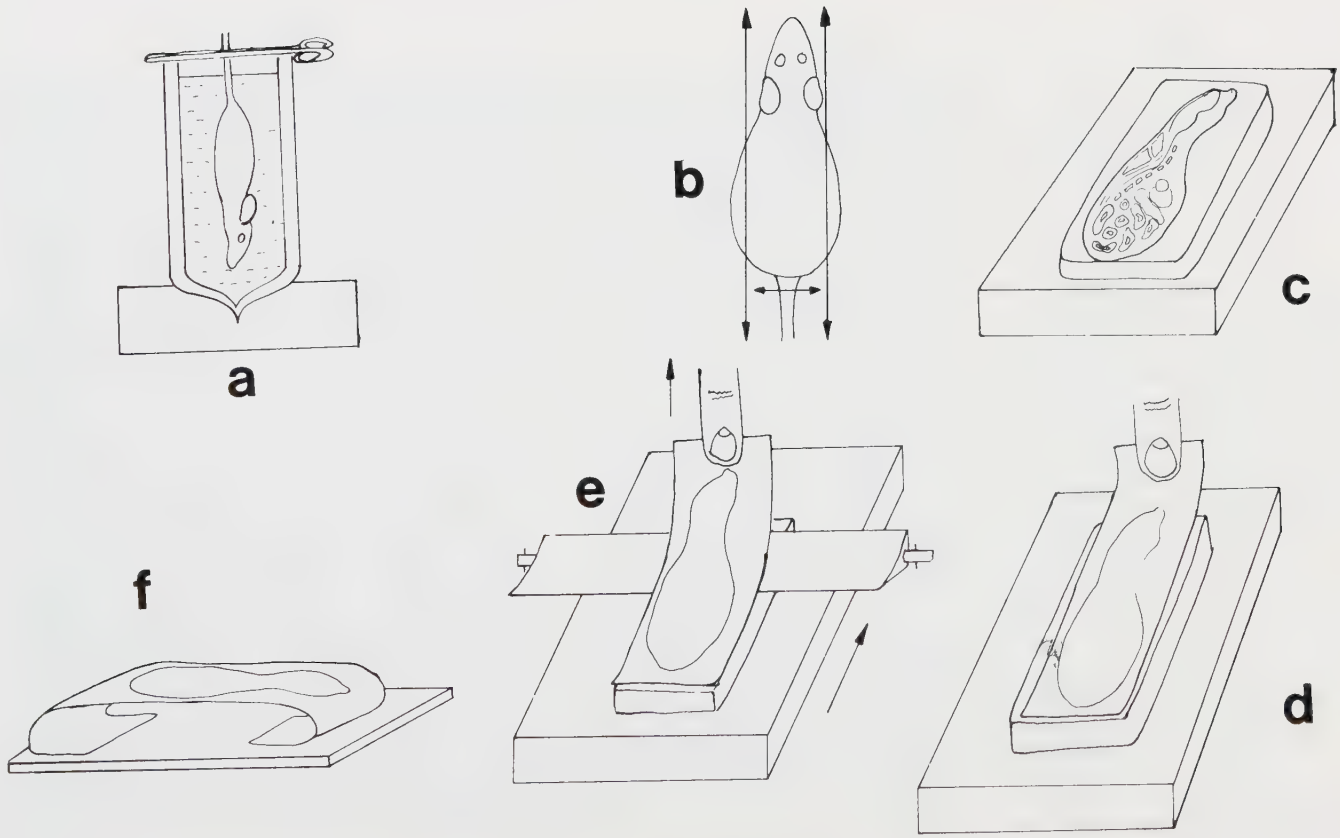


Figure 2 : technique de l'autoradiographie macroscopique

afin d'obtenir une dessiccation totale, dessiccation réalisée en 4-5 jours.

Le temps qui s'écoule entre le moment où la coupe est commencée et le moment où elle est placée en cryo-dessiccation doit être aussi court que possible, afin d'éviter tout phénomène de décongélation.

Au bout de 4-5 jours, les coupes sont sorties du congélateur dans un emballage hermétique de plastique souple, afin d'éviter toute condensation. Elles sont ensuite appliquées sur des films Kodak-Kodirex. Une fois les applications terminées, les films sont pressés fortement entre deux plaques de verre, à l'abri de la lumière, puis placés dans un réfrigérateur (+ 4 °C) dans des sacs de plastique souples et étanches à la lumière.

Le développement des films suivant le processus photographique habituel, est réalisé après un délai déterminé expérimentalement (13-15 jours).

43 — *Autoradiographie microscopique ou autohistoradiographie :*

Utilisant le même principe, cette technique permet la localisation de l'isotope au niveau cellulaire.

L'organe prélevé après une dissection fine sur l'animal tué par saignée, est laissé en fixation dans une solution d'aldéhyde formique à 10 % pendant au moins 24 heures. Il est ensuite placé sur la platine d'un microtome-cryostat I.E.C., modèle C.T.F. (1), maintenu par quelques gouttes d'eau qui se congèlent.

Les coupes sont récupérées sur des lames porte-objets préparées au préalable.

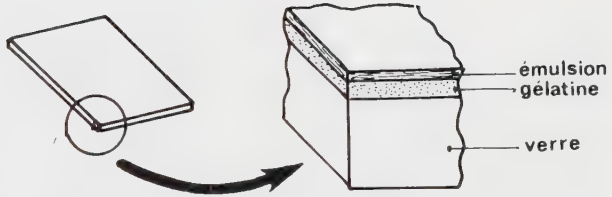
431 — *Préparation des lames* (2) :

Afin d'éviter tout artefact ou toute souillure, les lames sont immergées dans un mélange sulfochromique de composition :

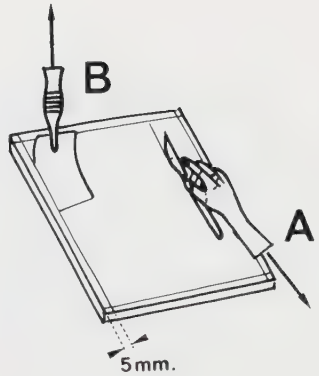
— dichromate de potassium	100 g
— acide sulfurique concentré	100 ml
— eau distillée q.s.p.	1 litre

(1) Nous remercions M. le Professeur C. Labie, du laboratoire d'H.I.D.A.O.A., qui a mis l'appareil à notre disposition.

(2) D'après une notice des Etablissements Kodak.

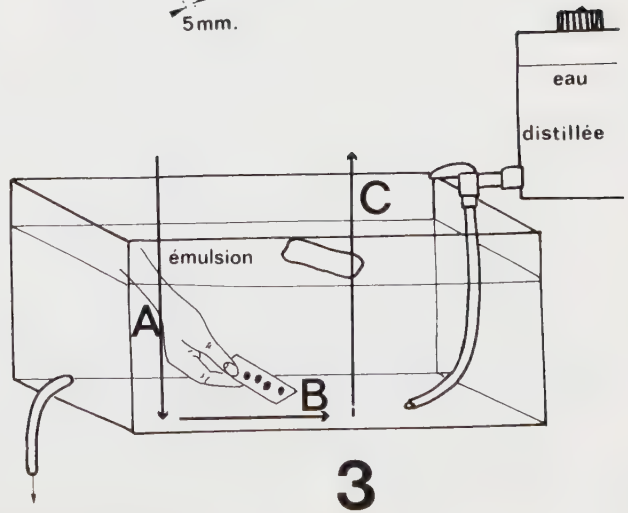


1



2

1. Présentation des plaques
2 A. Découpage de l'émulsion
B. Prise de l'émulsion
3 A. Immersion de la lame
B. Déplacement minutieux de la lame sous l'émulsion
C. Retrait de la lame recouverte par l'émulsion



3

Figure 3 : utilisation des émulsions pelliculables

On les laisse tremper jusqu'à ce que lors du rinçage, elles retiennent un film d'eau uniforme sur toute leur surface.

Les lames sont ensuite substratées dans une solution de gélatine portée à 25 °C dont la composition est :

— gélatine du commerce ..... 5 g
— alun de chrome ..... 0,5 g
— eau distillée q.s.p. ..... 1 litre

Retirées de ce bain, les lames sont disposées verticalement pour séchage dans un endroit propre, à l'abri de la poussière (sorbonne).

Enfin, elles sont rangées dans des boîtes porte-lames qui sont conservées au réfrigérateur, afin d'éviter le développement de microorganismes.

432 — *Réalisation des coupes :*

Les coupes sont effectuées classiquement et recueillies directement sur la lame substratée.

433 — *Dépôt de l'émulsion :*

Schématiquement, deux types d'émulsions sont utilisables :

— les émulsions pelliculables,
— les émulsions sous forme de gel.

Nous avons utilisé les deux catégories et décrirons successivement leur mode de préparation.

4331 — *Les émulsions pelliculables :*

Mises au point par les établissements Kodak-Pathé appliquant le principe défini par Pelc [197-198-199-200], elles ont l'avantage d'être directement utilisables par le manipulateur. Supportées par une couche de gélatine, les émulsions sont coulées sur une plaque de verre (*fig.* 3; 1). Nous avons utilisé les émulsions AR-10 dont les caractéristiques sont :

— épaisseur de l'émulsion : 5 μ
— épaisseur de la gélatine : 10 μ
— épaisseur de la plaque de verre : 1,5 mm.

L'épaisseur de l'émulsion n'étant garantie que sur le centre de la plaque, on doit, sous éclairage spécial, découper sur tout le périmètre de la plaque une bande de 5 mm (*fig.* 3; 2 A). Après

avoir détaché la pièce d'émulsion nécessaire pour recouvrir la lame (*fig.* 3; 2 B), on pose celle-ci renversée à la surface d'un bac empli d'eau distillée, au pH voisin de la neutralité. Après quelques instants, l'émulsion se « gonfle » et se déplie bien, par imbibition d'eau. On immerge alors la lame porte-objets sous l'émulsion et on la retire en soulevant l'émulsion (*fig.* 3; 3).

4332 — *Les émulsions gel-liquides :*

Livrées sous forme de gel, ces émulsions nécessitent une préparation en chambre noire.

Nous avons utilisé le produit Ilford L4 (1).

Dans une cuve de trempage, on verse 11,76 ml d'eau distillée et 0,24 ml de glycérol. Cette cuve est placée dans un bain-marie (+ 43 °C).

Dans une éprouvette de 25 ml, on dépose les copeaux d'émulsion jusqu'au niveau 25 ml environ. Cette éprouvette est placée au bain-marie pendant 10 minutes, l'émulsion étant agitée lentement.

On verse ensuite 12 ml de l'émulsion dans la cuve de trempage. On laisse reposer deux minutes pour que les bulles d'air se dispersent.

Une lame porte-objets est alors immergée verticalement dans l'émulsion puis retirée lentement. Elle est maintenue verticalement pendant quelques instants. On vérifie qu'il n'y ait aucune bulle. L'excès d'émulsion est éliminé avec une gaze; on essuie la face postérieure de la lame porte-objets, que l'on pose enfin sur une surface froide.

Quand les lames sont sèches, elles sont rangées dans des boîtes noires scellées. Ces boîtes, protégées par des sacs de plastique souples et étanches, sont stockées au réfrigérateur à + 4°C.

434 — *Révélation-fixation :*

Nous utilisons pour cette phase de la manipulation, l'Atomal FF (Agfa Gevaert) indifféremment pour les émulsions pelliculables et liquides. Le temps de révélation est de 15 minutes.

Le rinçage est alors effectué avec de l'eau distillée contenant 1 % d'acide acétique.

(1) Nous remercions M. Morre, qui nous a transmis la technique.
(Station de Pharmacologie-Toxicologie INRA, Toulouse. Directeur: Cl. Labouche.)

La fixation est effectuée dans un fixateur neutre classique pendant 30 minutes.

Le séchage est réalisé à l'abri de la poussière.

435 — *Coloration :*

Une fois séchées, les lames sont colorées selon les techniques histologiques classiques. Les temps de coloration doivent être augmentés de 10 % environ du fait de la présence de l'émulsion.

5. — La résolution en autoradiographie :

51 — *Définition :*

Si l'on considère sur une lame porte-objets, une source ponctuelle R, couverte par l'émulsion, la répartition des grains d'argent

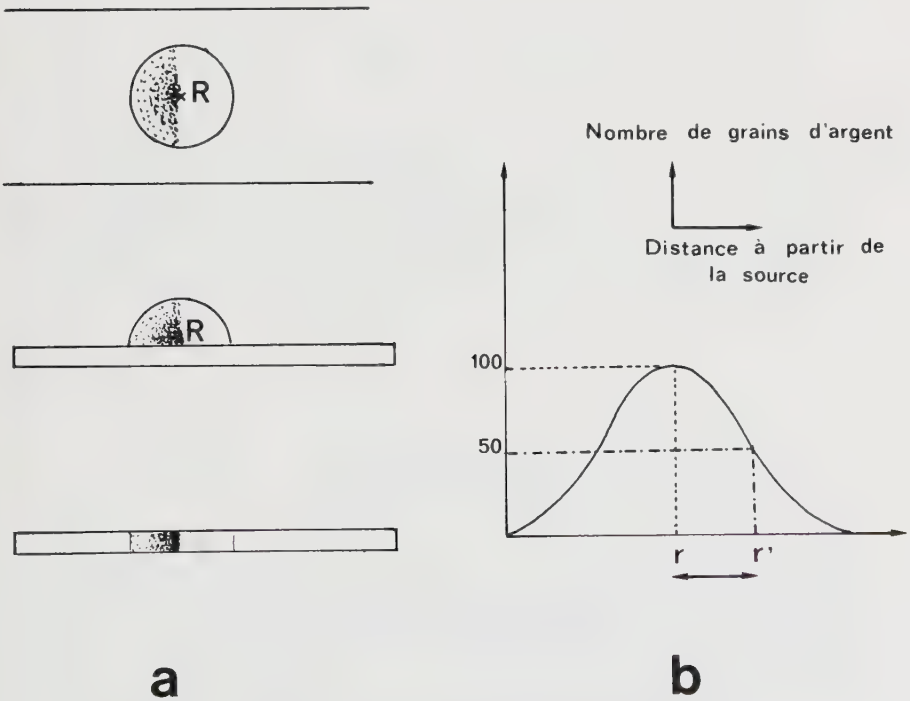


Figure 4 : définition de la résolution en autoradiographie

révélés se fera suivant une courbe de Gauss, si l'on admet que le trajet des particules est rectiligne sur une faible distance.

En d'autres termes, la densité des grains d'argent révélés est beaucoup plus importante à proximité de la source qu'aux extrémités (*fig.* 4 a).

Doniach et Pelc [66-200] ont convenu de définir la résolution en autoradiographie comme étant la distance r-r' qui correspond au point au niveau duquel le nombre de grains d'argent révélés est la moitié du nombre de grains révélés au niveau de la source R (*fig.* 4 b).

52 — *Expression mathématique de la résolution :*

Que l'on considère l'autoradiographie macroscopique ou l'autoradiographie en microscopie optique, on retrouve toujours les trois composantes suivantes : (*fig.* 5).

— support
— spécimen radioactif
— émulsion.

Si l'on suppose que l'isotope est ponctuel (R.) (*fig.* 5), l'image produite par le rayonnement de désintégration sur l'émulsion d'épaisseur E sera une image circulaire de rayon VI, en admettant que les rayonnements de désintégration ont un trajet rectiligne sur une faible distance (*fig.* 5). En conséquence, le nombre de grains d'argent révélés sera, pour cette surface :

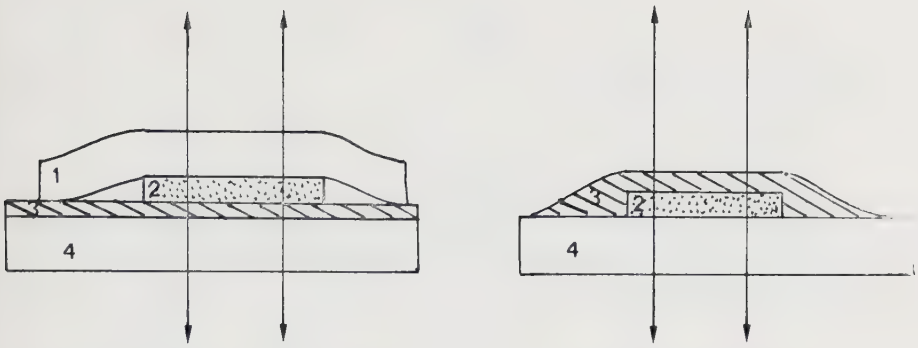
$$d\,n = \frac{\varepsilon\ p}{4\,\pi\,r^2}\ N.\ ds.\ de$$

ε = facteur dépendant de l'émulsion

p = facteur dépendant de l'exposition.

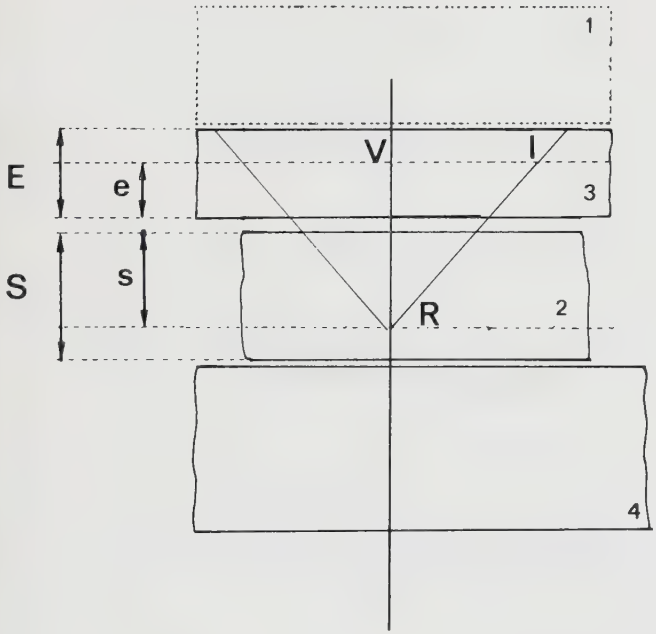
Ces deux facteurs (ε, p), peuvent être parfaitement maîtrisés dans l'application rigoureuse des techniques (choix de l'émulsion, temps d'exposition identiques).
D'où l'on peut poser :

$$A = \varepsilon\ p$$



Autoradiographie macroscopique

Autohistoradiographie



1. Ruban adhésif
2. Spécimen
3. Emulsion
4. Support

Figure 5 : calcul de la résolution

L'équation devient alors :

$$dn = \frac{A}{4 \pi r^2} \; N. \; ds. \; de$$

Le nombre de grains d'argent révélés correspondant à la source ponctuelle sera donc :

$$n = \frac{A}{4 \pi} N \int_{s=0}^{s=S} \int_{e=0}^{e=E} \frac{ds \; . \; de}{r^2}$$

53 — *Facteurs intervenant pour la résolution :*

— la distance source-émulsion : de la formule précédemment énoncée, il découle que l'épaisseur du spécimen devra être aussi faible que possible. Cependant, plus on diminue cette épaisseur et plus on réduit la quantité du matériel radioactif.

— l'épaisseur de l'émulsion.

— la taille des cristaux de bromure d'argent : plus leur taille est réduite et meilleure est la résolution.

— la source radioactive : plus l'énergie maximale des particules est élevée, plus grand est le nombre de grains d'argents révélés ce qui par voie de conséquence diminue d'autant le pouvoir de résolution.

— la sensibilité des émulsions.

En résumé, deux facteurs apparaissent prépondérants dans les techniques autoradiographiques. Ce sont :

— la distance entre la source et l'émulsion,

— l'énergie de l'isotope.

Tous les autres facteurs sont, en effet, contrôlables par le choix des émulsions.

ÉTUDE DU MÉTABOLISME DE L'ION SULFATE MARQUÉ AU SOUFRE 35

1. — Protocole expérimental :

11 - *Les animaux :*

Les animaux que nous avons utilisés étaient des souris de souche Charles River C.D. cobs, répartis en 6 lots :

— Lot 1 : 30 animaux.
— Lot 2 : 45 animaux.
— Lot 3 : 12 animaux.
— Lot 4 : 33 animaux.
— Lot 5 : 24 animaux.
— Lot 6 : 10 animaux.

12 - Administration du produit :

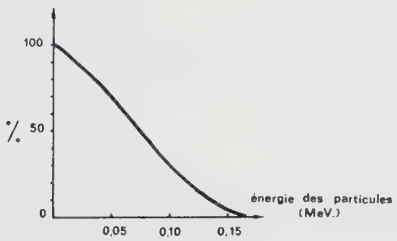
121 - *Le produit :*

Il s'agit de sulfate de sodium marqué au ^{35}S.

1211 — *Caractéristiques du soufre 35 :*

Le ^{35}S est un émetteur de rayonnements corpusculaires formés de négatons et de protons.

Son spectre d'énergie est d'après MANTEL [167] :



PRODUCTION :

Le ^{35}S est produit dans les piles atomiques, en activant du chlore 35 par des neutrons. La réaction nucléaire est de type (n, p).

Le chlore 35 qui est un élément stable, donne un corps particulièrement instable le chlore 36, lorsqu'il est activé, par incorporation d'un neutron. Du fait de sa grande instabilité, le chlore 36 se désintègre rapidement en donnant le soufre 35 par perte d'un proton. Cette réaction se résume comme suit :

$$\underset{17}{\overset{35}{Cl}} + \underset{0}{\overset{1}{n}} \rightarrow \underset{17}{\overset{36}{Cl}} \rightarrow \underset{16}{\overset{35}{S}} + \underset{1}{\overset{1}{p}}$$

LOT	BUT DE LA MANIPULATION	NOMBRE D'ANIMAUX	TEMPS DE SURVIE	VOIE D'ADMINISTATION
1.	Durée de l'élimination _ Organes de concentration	30	5mn_30mn_2h_4h_16h_ 24h_96h_8j_15j_1mois.	Intraveineuse
2.	Répartition en fonction de la voie d'administration	45	5mn_1h_4h_24h_72h_	Sous-cutanée Orale Intrapéritonéale
3.	Répartition chez des jeunes en fonction de l'âge	1-2	30mn_2j_8j_15j_	Intrapéritonéale
4.	Répartition chez des animaux ayant ingéré de fortes teneurs en SO_4^{--}	33	5 mn_15 mn_30mn_1h_ 4h_8h_16h_24h_48h_ 96h_8j_	Intrapéritonéale
5.	Elimination chez la femelle gestante	24	5mn_1h_2h_4h_17h_ 24h_48h_96h_	Intraveineuse
6.	Répartition chez des jeunes après administration à la mere	10	45mn_6j_12j_22j_30j_	Intraveineuse

Tableau 1 : protocole général de l'expérimentation

L'énergie maximale de son rayonnement est de 0,167 M.eV avec une énergie moyenne de 48,7 keV.

La durée de 1/2 vie de l'isotope $^{35}_{16}S$ ou période est de 87,1 jours.

1212 - *La molécule marquée :*

La molécule de sulfate de sodium marquée au ^{35}S nous a été livrée par le Commissariat à l'Energie Atomique (Saclay) sous forme de solution injectable isotonique, sans entraîneur, l'activité spécifique variant de 4 à 4,5 mCi/ml.

122 - *Mode d'administration :*

Nous l'avons résumé dans le tableau n° 1.

2. — Résultats :

21 - *Durée d'élimination. Organes de concentration :*

211 - *Chez l'animal adulte :*

2111 - *Administration par voie veineuse.*

Les résultats présentés par ailleurs [210] sont rassemblés sur le tableau n° 2 et les planches I, II, III.

Temps de survie : 5 mn.

Durée d'exposition : 12 jours.

On observe une radioactivité répartie dans tout l'organisme excepté dans l'axe cérébro-spinal. Le tégument et les poils sont modérément imprégnés tout comme les follicules pileux des vibrisses. La masse sanguine (cœur, aorte antérieure, vaisseaux hépatiques) montre une imprégnation moyenne. Celle de la masse intestinale est, par contre, forte. En ce qui concerne l'œil, seules les parties périphériques du globe oculaire sont moyennement imprégnées.

Temps de survie : 30 mn.

Durée d'exposition : 17 jours.

	5 mn.	30 mn.	2 h.	4h.	16 h.	24 h.	96 h.	7 j.	15 j.	1m.
Encéphale	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Moelle épinière	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Muscle cardiaque	+	+	+	+	o	o	o	o	o	o
Sang	++	+	o	o	o	o	o	o	o	o
Poumons	+	+	+	+	o	o	o	o	o	o
Foie	+	+	+	+	o à +	o à +	o	o	o	o
Canaux biliaires	o	o	o	+	o	o	o	o	o	o
Vésicule biliaire	o	o	+	+++	o	o	o	o	o	o
Estomac	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Paroi intestinale	++	+	++	++	o à +		o	o	o	o
Contenu intestinal	++++	++++	+++	+++	+		o à +	o	o	o
Parenchyme rénal	+	+	+	+	o	o	o	o	o	o
Bassinet du rein	+	++	+	+	o	o	o	o	o	o
Os	+	+	+	+	o	o	o	o	o	o
Cartilage	o	o	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	++++	+++	o à +
Muscle	+	+	+	+	o à +	o à +	o	o	o	o
Tégument et poils	+	+	+	+	o à +	o à +	o à +	o à +	o à +	o
Oeil	+		+	+	o	o	o	o	o	o

Tableau 2 : répartition de la radioactivité chez l'animal adulte

Sur une coupe effectuée volontairement dans le plan horizontal, on note que l'imprégnation intestinale a progressé par rapport au lot précédent. Pour toutes les anses intestinales, on constate que la paroi intestinale est moins marquée que le contenu. L'estomac ne montre sur cette photographie qu'une faible imprégnation.

Temps de survie : 2 heures.

Durée d'exposition : 18 jours.

On observe une très forte concentration de sulfate marqué dans toute la masse intestinale. L'axe cérébrospinal, quant à lui, n'est toujours pas pénétré. Par contre, apparaît un marquage assez important des cartilages (contour du coxal, cavité cotyloïde, appendice xiphoïde, cartilages intervertébraux et intersternébraux...). La masse musculaire est faiblement imprégnée.

Temps de survie : 4 heures.

Durée d'exposition : 13 jours.

Il existe une très forte radioactivité au niveau des anses intestinales, de la vésicule biliaire et surtout des cartilages.

Temps de survie : 16 heures.

Durée d'exposition : 14 jours.

L'autoradiogramme montre une nette disparition de la radioactivité de l'organisme excepté des cartilages, dans lesquels le soufre marqué persiste.

Temps de survie : 24 heures.

Durée d'exposition : 18 jours.

La radioactivité diminue de plus en plus dans l'organisme excepté dans les cartilages.

Temps de survie : 96 heures.

Durée d'exposition : 16 jours.

Seuls les cartilages sont visibles sur les autoradiogrammes. La masse intestinale est à peine décelable.

	5mn.			1 h.			4h.			24h.			72h.		
	SC.	PO.	IP.	SC.	PO.	IP.	SC.	PO.	IP.	SC.	PO.	IP.	SC.	PO.	IP.
Encéphale	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o			
Moelle épiniere	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Muscle cardiaque	+	+	+	+	+	+	+	+	+	o	o	o	o	o	o
Sang	++	++	++	++	++	++	+	+	+	o	o +	o +	o	o	o
Poumons	++	++	++				+	+	+	o	o à +	o à +	o	o à +	o
Foie	++	++	++	++	++	++	+-	+ +	+ +	o à +	+	+	o +	o à +	o à +
Canaux biliaires	o	o	o	+	+	+	++	++	++						
Vesicule biliaire	o a +	o	o	+	+	+	+++	++ +	++ +	+ +	++	++	o +	o	o
Contenu stomacal	o	+++++	o	o	+++++	o	o à +	++++		+	++	o à +	o	o	o
Paroi stomacale	+	o à +	+	o à +	+	++	+	+		+ +	++ +	+	o à +	++	o à +
Contenu intestinal	o	+++++	o	+++	+++++	+++	+++	+++++	+++ +	+	+++	++	o à +	+	o à +
Paroi intestinale	+	+++	+	+	+++	+	+	+	++	+	++++	++++	o à +	o à +	o à +
Parenchyme rénal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	o +	+	+
Bassinet du rein	+	++	+	+	++++	++		+++++		+	++	++	+	+	o à +
Urine vésicale		o	o à +				+++++	+	++++			++	o à +	+	o à +
Os	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	o à +	o à +
Cartilages	o à +	o	o	o	o à +	o à +	+	+++++	+++	++	+++++	+++++	+++++	+++++	++++++
Muscles	+	+	+	+	+	+	+	+	+	o	+	+	o	o	o
Tégument et poils	+	+	+	+	+	+	+	+	+	o à +	+	+	+	+	+
Oeil	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	o à +	o	o
Rate			o à +	o à +	+	+	+	+	+	+	+	+	o à +	o	o
Testicule						+	+			o					
Cavité péritoneale	o	o	+++++	o	o	o a +	o	o	o	o	o	o	o	o	o

Tableau 3 : répartition de la radioactivité en fonction de la voie d'administration

Temps de survie : 8 jours.

Durée d'exposition : 14 jours.

La radioactivité des cartilages est la seule qui apparaisse et son intensité est plus faible.

Temps de survie : 15 jours.

Durée d'exposition : 20 jours.

On note une nette diminution de la radioactivité des cartilages.

Temps de survie : 1 mois.

Durée d'exposition : 19 jours.

Toute radioactivité a disparu des cartilages.

2112 - *Autres voies d'administration :*

Les résultats sont réunis sur le tableau n° 3.

Temps de survie : 5 mn.

Quelle que soit la voie d'administration, la radioactivité est répartie dans tout l'organisme à l'exception du système nerveux central. Les vaisseaux sanguins présentent une imprégnation moyenne. Le contenu intestinal est très marqué pour les animaux ayant ingéré le produit alors qu'elle est nulle dans les deux autres cas.

On note enfin une radioactivité très importante dans la cavité péritonéale pour les animaux qui ont reçu la solution marquée par voie péritonéale.

Temps de survie : 1 heure.

On retrouve une très forte concentration de l'isotope au niveau intestinal, chez les animaux qui ont été traités par voie orale, et à un moindre degré chez les autres.

La concentration au niveau du bassinet du rein est très importante chez les animaux ayant reçu le produit par voie péritonéale alors qu'elle est faible pour les animaux des deux autres lots.

Les cartilages sont très faiblement imprégnés.

Temps de survie : 4 heures.

Une radioactivité moyenne est mise en évidence au niveau de la vésicule biliaire et des canaux biliaires pour les trois lots. Le contenu intestinal est très fortement imprégné pour les animaux ayant reçu le produit soit par voie orale, soit par voie intrapéritonéale et ne l'est que moyennement chez les animaux injectés par voie sous-cutanée. L'élimination urinaire est très importante. La fixation cartilagineuse est faible pour les animaux injectés par voie sous-cutanée, importante pour ceux injectés par voie intrapéritonéale et très importante pour les animaux ayant reçu le produit marqué par tubage gastrique.

Temps de survie : 24 heures.

On note une diminution de la radioactivité biliaire, intestinale et urinaire. Par contre, il existe une radioactivité très importante au niveau des cartilages pour les animaux qui ont reçu le produit par voie orale ou péritonéale et importante pour les animaux traités par voie sous-cutanée. Il y a en outre, pour les trois lots, une diminution de la radioactivité, dans le reste de l'organisme.

	45mn.	2j.	8j.	15j.
Cartilages	+++++	+++++	+++++	+++++
Os	++	+	+	+
Encéphale	O +	+	+	+
Muscles	+	+	++	++
Tégument	+	+	+	+
Foie			++	++
Contenu intestinal			++	++
Oeil		+	+	+

Tableau 4 : répartition de la radioactivité en fonction de l'âge

Temps de survie : 72 heures.

La fixation du ^{35}S est maximale au niveau des cartilages. On note une faible imprégnation aux niveaux intestinal et urinaire.

212 - *Chez les jeunes en fonction de l'âge :*

Les résultats sont regroupés sur le tableau n° 4 et la planche IV.

Temps de survie : 45 minutes.

La fixation du ^{35}S est très importante sur les cartilages. Les autres organes présentent une très faible fixation.

Temps de survie : 2 jours.

On note une très forte radioactivité au niveau des cartilages.

Temps de survie : 8 jours.

Les cartilages renferment toujours une très forte teneur en ^{35}S. Le contenu intestinal présente une radioactivité moyenne.

Temps de survie : 15 jours.

La radioactivité au niveau des cartilages et du contenu intestinal est importante.

Temps de survie : 3 semaines.

La répartition est identique à celle observée chez l'adulte.

213 - *Répartition chez les animaux ayant ingéré de fortes teneurs de sulfate de sodium :*

Les résultats sont réunis dans le tableau n° 5 et les planches V, VI, VII.

Temps de survie : 5 minutes.

Les résultats sont pratiquement identiques à ceux présentés plus haut (cf. § 211). Il y a cependant une plus forte concentration de l'isotope dans l'urine.

	5mn.	15mn.	30mn.	1h.	4 h.	8 h.	16h.	24 h.	48h.	96 h.	8j.
Encéphale	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Moelle épinière	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Muscle cardiaque	+	o à +	o à +	o à +	o à +	o à +	o	o	o	o	o
Sang	++	+++	++	+	+	o à +	o	o	o	o	o
Poumons	++	++	++	+	o à +	o à +	o	o	o	o	o
Foie	+	+	+	+	+	+	o à +	o	o	o	o
Canaux biliaires	o	o	++	++	+++	++	o à +	o	o	o	o
Vésicule biliaire	o	o	+++	+++	+++++	++++	+	o	o	o	o
Contenu stomacal	+++	+++		+++	++	++	o à +	o à +	o	o	o
Paroi stomacale	o à +	+	+	+	+	o à +	o à +.	o à +	o	o	o
Contenu intestinal	o	o	+++	+++++	++	++	+	++	o à +	o	o
Paroi intestinale	+	o à +	+	+	+++++	++++	++	+	o à +	o	o
Parenchyme rénal	+	+	+	+	+	+	o à +	o	o	o	o
Bassinet du rein	+++	++++	++++	++++	+++	+++	+	o	o	o	o
Urine vésicale	+++	++++		++++	+++++	+++++	+	o	o	o	o
Os	o	+	+	+	+	+	+		o à +	o	o
Cartilages	o à +	o	o	o à +	o à +	o à +	o	o à +	o à +	o à +	o
Muscles	+	+	+	+	+	+	o	o	o	o	o
Tégument et poils	+	++	+	+	+	+	o à +	o	o	o	o
Oeil	+	+	+	+	+	+	o	o	o	o	o
Rate	o à +	+	+	+	+	o à +	o à +	o	o	o	o
Testicule	+		+	+	+		o à +	o	o	o	o

Tableau 5 : répartition de la radioactivité chez les animaux ayant ingéré de fortes teneurs de sulfate de sodium

Temps de survie : 15 minutes.

On note une concentration moyenne de la radioactivité aux niveaux sanguin et stomacal et une forte concentration dans l'urine (bassinet et vessie).

Temps de survie : 30 minutes.

On observe une forte concentration de sulfate marqué au niveau de la vésicule biliaire, du contenu intestinal et à un degré moindre, au niveau des canaux biliaires.

Cette concentration est très importante dans l'urine.

Temps de survie : 1 heure.

Le contenu intestinal et l'urine (bassinet et vessie) sont très fortement imprégnés.

Les cartilages ne sont pratiquement pas marqués.

Temps de survie : 4 heures.

On note un maximum de fixation au niveau de la vésicule biliaire, de la paroi intestinale et de l'urine. Les cartilages ne sont pratiquement pas marqués.

Temps de survie : 8 heures.

Les résultats sont identiques, mais la fixation devient moins importante.

On ne note aucune radioactivité au niveau des différents cartilages.

Temps de survie : 16 heures.

On ne retrouve qu'une faible concentration de la radioactivité dans la vésicule biliaire, la paroi intestinale et le contenu intestinal.

Temps de survie : 24 heures.

L'autoradiogramme montre une très faible radioactivité dans le contenu intestinal et la paroi intestinale.

On ne trouve que des traces de radioactivité au niveau des cartilages.

MERES

	5mn.	1 h.	2 h.	4 h.	17 h.	24h.	48 h.	96 h.
Encéphale								
Moelle épinière	o	o	o	o	o	o	o	o
Muscle cardiaque	+	+	+	+	o à +	o à +	o	o
Sang	++	+	+	o à +	o à +	o	o	o
Poumon	+	+	+	+	+	o à +	o	o
Foie	+	+	+	++	+	o à +	o	o
Canaux biliaires	o	o	o	+	+	+	o	o
Vésicule biliaire	o	++	++	++	++		++	o
Estomac	o	o	o	o	o	o	o	o
Paroi intestinale	o	++	+++	+++	+	+	+	o
Contenu intestinal	o	+++	+++++	+++++	+++	++	o à +	o à +
Parenchyme rénal	+	+	+	+	+	+	+	o
Bassinet du rein	+	++	++++	++++	+	+	o à +	o
Os	o	o à +	+	+	+	o à +	o à +	o
Cartilages	o	o à +	o à +	o à +	+	++	++++	++++
Muscles	o	+	+	+	+	o à +	o	o
Tegument et poils	+	+	+	+	+	+	+	o
Oeil	+	+	+	+	+	+	o	o
Calotte placentaire	++	+	+	+	o à +	o à +	o à +	o
Vessie		++	+++	++++	+++	++	o à +	o
Os	o	+	+	+	+	+	+	+
Cartilages	o	++	++	+++	++++	+++++	+++++	+++++
Foie	o	+	+	+	+	+	o à +	o
Muscles	o	+	+	+	+	o à +	o	o
Paroi intestinale	o	o	o	+	o	o	o	o
Contenu intestinal	o	o	+	+	+	o à +	o à +	o à +
Encéphale								
Moelle épinière	o	o	o	o	o	o	o	o
Estomac	o	o	o	o	o	o	o	o

FŒTUS

Tableau 6 : répartition de la radioactivité chez la femelle gestante

Temps de survie : 48 heures.

Il ne reste plus que quelques traces de radioactivité dans le parenchyme rénal.

Temps de survie : 96 heures.

Il n'y a pratiquement plus de radioactivité dans l'organisme.

Temps de survie : 8 jours.

Toute radioactivité a disparu.

22 — *Répartition du sulfate au moment de la gestation :*

221 — *Répartition chez la femelle gestante :*

Les résultats sont rassemblés sur le tableau n° 6 et les planches VIII, IX, X, XI.

Temps de survie : 5 minutes.

— Mère : Il y a une légère imprégnation de tout l'organisme et une faible imprégnation de la masse sanguine, hépatique, du parenchyme rénal et de la calotte placentaire.

— Fœtus : Bien que l'on devine les limites du corps, on ne note aucune radioactivité dans les organes.

Temps de survie : 1 heure.

— Mère : On retrouve une imprégnation moyenne au niveau des parois intestinales, du contenu intestinal, de l'urine (bassinet et vessie) et des traces de radioactivité dans les cartilages.

— Fœtus : On note une faible radioactivité au niveau de l'os, des cartilages, du foie, les cartilages étant toutefois plus marqués que les autres organes fœtaux.

Temps de survie : 2 heures.

— Mère : Il existe une radioactivité moyenne dans la vésicule biliaire, la paroi intestinale et l'urine vésicale. Par contre, l'imprégnation est très importante au niveau du bassinet du rein et du contenu intestinal.

— Fœtus : La concentration du ^{35}S au niveau des os, des cartilages, des muscles et du foie est approximativement la même. Par contre, le contenu intestinal présente une radioactivité légère.

Temps de survie : 4 heures.

— Mère : L'imprégnation est très forte au niveau du contenu intestinal et de l'urine (bassinet et vessie). Elle est moyenne au niveau de la paroi intestinale et de la vésicule biliaire. On ne décèle que des traces de radioactivité dans les cartilages.

— Fœtus : Les cartilages présentent une fixation moyenne.

Temps de survie : 17 heures.

— Mère : On ne retrouve plus qu'une radioactivité moyenne dans le contenu intestinal et l'urine vésicale.

— Fœtus : L'imprégnation des cartilages est importante.

Temps de survie : 24 heures.

— Mère : Il ne persiste qu'une faible radioactivité dans le contenu intestinal, les cartilages et l'urine vésicale.

— Fœtus : Une très forte radioactivité est mise en évidence dans les cartilages.

Temps de survie : 48 heures.

— Mère : Les cartilages sont fortement imprégnés.

— Fœtus : La radioactivité est très faible dans les organes fœtaux. Seuls les cartilages renferment beaucoup de ^{35}S.

Temps de survie : 96 heures.

— Mère : Toute radioactivité a disparu de l'organisme excepté des cartilages où on note une forte teneur en ^{35}S.

— Fœtus : La radioactivité au niveau des cartilages est très importante.

222 — *Répartition chez des jeunes nés d'une mère ayant reçu une injection de sulfate marqué :*

Temps de survie : 45 minutes.

La répartition est homogène dans tout le corps. On note une imprégnation moyenne du foie, des premières anses intestinales et une très forte imprégnation des cartilages.

Temps de survie : 6 jours.

On note une imprégnation maximale dans les cartilages (intervertébraux, intersternébraux, de la trachée artère et des os) et une faible imprégnation de l'urine vésicale et des muscles.

Temps de survie : 12 jours.

Persistance d'une forte radioactivité uniquement dans les cartilages.

Temps de survie : 22 jours.

On trouve de la radioactivité dans les cartilages.

Temps de survie : 30 jours.

On note toujours une radioactivité moyenne dans les cartilages.

23 — *Répartition à l'échelle cellulaire : résultats autohistoradiographiques.*

Ils sont pour l'instant fragmentaires. Cependant, quelques observations peuvent déjà être faites au sujet de la fixation au niveau du cartilage et des téguments.

— Les cartilages : Nous avons mis en évidence de la radioactivité au niveau du cartilage xiphoïde. Les grains d'argent semblent répartis de façon assez homogène sur les chondrocytes et au niveau de la substance fondamentale.

De tels résultats ont été retrouvés au niveau des cartilages articulaires (cavité cotyloïde du coxal).

— Le tégument : On a noté la présence de radioactivité principalement au niveau de l'épiderme et du derme.

Organes \ Temps de survie	15 minutes	30 minutes	1 heure	2 heures	4 heures	12 heures
Contenu stomacal	91 756	77 556	424 826	251 879	171 580	82 371
Contenu intestinal	292 607	481 808	2 209 323	699 762	604 838	
Contenu cœcal	50 661	82 057	117 435	220 125	625 775	212 552
Crottes	143 334	158 251	230 648	362 783	326 402	
Muqueuse stomacale	112 775	57 159	91 815		96 185	
Muqueuse intestinale		508 731	59 463		153 850	17 151
Muqueuse cœcale	144 658	81 110	232 194		92 179	
Foie	118 089	110 712	167 047	132 315	42 167	
Rate	159 795	26 634	113 077	117 842	62 865	
Cœur		26 278		20 468	15 438	6 693
Sang total	120 302	212 058	203 029	134 859	53 272	
Poumons	194 763	77 450	262 420	122 376	58 083	
Encéphale	16 284	14 433	12 653	12 905	5 910	2 519

TABLEAU N° 7

Répartition de la radioactivité chez des souris adultes ayant reçu par voie veineuse 200 μ Ci/kg de $Na_2{}^{35}SO_4$.
($d.mn^{-1}.g^{-1}$)

3. — **Interprétation — Discussion :**

Nous avons injecté du sulfate de sodium marqué au ^{35}S, à des souris afin d'étudier son métabolisme.

Différents commentaires s'imposent d'une part sur les techniques employées, et d'autre part sur nos résultats.

31 — *Les techniques employées :*

— *La technique d'autoradiographie macroscopique* que nous avons utilisée donne entière satisfaction. De réalisation fort aisée, elle réclame cependant une grande vitesse d'exécution.

Certaines réserves doivent être cependant formulées, afin de mieux interpréter les résultats obtenus.

• Naturellement, elle ne traduit que la présence du radioisotope quelle que soit l'architecture atomique dans laquelle celui-ci est intégré, sans préciser s'il est à l'état libre ou lié à des molécules organiques.

• Dans certains cas, il a été très difficile voire impossible de préciser si l'on retrouvait de la radioactivité au niveau de certains organes en l'occurrence au niveau du système nerveux central.

Dans une première note [210], nous avions avancé qu'aucune radioactivité n'avait été retrouvée aux niveaux cérébral et médullaire. D'autres résultats interprétés depuis, dont certains sont présentés sur la planche IV, ont révélé des traces de radioactivité au niveau des hémisphères cérébraux. Par ailleurs, on retrouve de la radioactivité dans l'encéphale de fœtus *in utero* (cf. planche XI).

Nous avions rencontré le même problème dans l'étude du métabolisme du cholestérol marqué au ^{14}C chez le poussin. Nous pensons qu'il s'agit là d'un problème de seuil ou de sensibilité d'émulsion, l'activité enregistrée dans le cerveau étant très inférieure à celle que l'on détecte dans le reste de l'organisme. C'est ce que précise notre étude quantitative dont nous donnons dans le tableau n° 7 quelques résultats.

Quoi qu'il en soit, la radioactivité mise en évidence dans le système nerveux central est, dans nos expériences, très faible.

— *Les techniques autohistoradiographiques* nous ont paru faciles à mettre en œuvre. Les résultats ne sont cependant pas aisés à interpréter. La lecture histologique de la coupe, qui permet de préciser le niveau exact de fixation du radioélément, est longue et minutieuse.

32 — *Les résultats de notre étude :*

321 — *Durée d'élimination — Organes de concentration.*

— D'après les résultats que nous venons d'exposer, on peut conclure que le sulfate marqué au ^{35}S *se répartit très rapidement* puisqu'une large part de l'organisme est imprégnée au bout de 5 minutes. Cette répartition très rapide de l'isotope est retrouvée quelle que soit la voie d'administration (orale, sous-cutanée, intraveineuse, intrapéritonéale). Elle est en partie modifiée si l'organisme de l'animal est saturé en sulfate de sodium.

Cette répartition touche tous les tissus, à l'exception du système nerveux central, mais nous avons déjà discuté cet aspect.

— Après 30 minutes, on constate que le sulfate se trouve concentré en très grosses quantités dans la lumière intestinale. Cette concentration est d'emblée importante dans les premières voies intestinales. Elle est pratiquement nulle vers la 24^{e} heure. Ces résultats, valables pour les animaux ayant reçu le produit marqué par voie veineuse, le sont aussi si on l'a administré par les autres voies. On note cependant que la concentration de l'isotope dans le contenu intestinal est moyennement importante 24 heures après l'administration et persiste au bout de 72 heures, chez les animaux traités par voie orale.

Le fait que le sulfate marqué au ^{35}S se trouve très rapidement concentré dans la lumière digestive est certainement en rapport avec la faculté qu'ont la paroi stomacale et la paroi intestinale, de synthétiser et d'excréter des mucines, dans la composition desquelles on dénombre des mucosubstances sulfatées. Si certaines de ces substances ont été individualisées, leur mécanisme de formation reste encore mal connu.

— Dès la seconde heure, on note que *les cartilages concentrent en grandes quantités l'ion sulfate.* Cette concentration semble augmenter aux dépens de la concentration en sulfates du reste de l'organisme. Cette fixation importante au niveau des

cartilages est concevable lorsque l'on connaît la composition de ceux-ci. Leur substance fondamentale est particulièrement riche en mucopolysaccharides et surtout en mucopolysaccharides sulfatés. Ces substances que les biochimistes préfèrent appeler glycosamino-glycurono-glycanes complexes, ou plus simplement glycosamino-glycanes complexes, sont d'un point de vue chimique des polyosides hétérogènes qui résultent de la condensation d'un certain nombre de sous-unités disaccharidiques élémentaires, formées par une molécule d'acide hexuronique et une molécule d'hexamine (2-amino-2-désoxyhexose) porteuse de groupements sulfates [164]. Selon la position des groupements sulfates et la nature de l'unité disaccharidique, on distingue :

- les chondroïtines-sulfates :
  - chondroïtine-sulfate A = chondroïtine-4-sulfate
  - chondroïtine-sulfate C = chondroïtine-6-sulfate
  - chondroïtine-sulfate C sulfate
- le dermatane sulfate
- le kératane sulfate.

Il semble que l'on trouverait surtout dans les cartilages, les chondroïtines sulfates A et C et le kératane sulfate.

A ce stade de l'expérimentation, il apparaissait donc que les tissus cartilagineux semblaient être des organes cibles pour le sulfate. Afin de vérifier ce fait, nous avons essayé de saturer ces éventuels récepteurs à l'ion sulfate. Dans ce but, pendant 20 jours, nous avons substitué à l'eau de boisson ordinaire, une solution de Na_2SO_4, 10 H_2O, dont la concentration était de 100 g/l. En outre les animaux recevaient quotidiennement, par tubage gastrique, 1 millilitre de cette solution durant la même période.

Les autoradiogrammes ont montré que la répartition de la molécule est dans l'ensemble analogue à celle observée chez l'animal adulte. La seule modification nette que l'on puisse noter est le fait qu'il n'y a pratiquement pas de fixation au niveau des tissus cartilagineux (intervertébraux, intersternébraux, articulaires, xiphoïde...). Cela confirme donc l'hypothèse que nous avions émise à savoir, *l'existence de récepteurs d'ions* SO_4^{--} *au niveau de tels tissus.*

Par autohistoradiographie, nous avons essayé de préciser la nature de tels récepteurs au niveau cellulaire. Les résultats que nous avons obtenus sont encore fragmentaires et seront exposés dans un travail ultérieur.

Par ailleurs, YOUNG a mis en évidence par autohistoradiographie en microscopie électronique [269] que le sulfate pouvait être détecté au sein des membranes et des vésicules du corps de Golgi dans certains organes (ovaires, moelle osseuse, cornée, ganglions), ce qui l'a amené à conclure que les systèmes enzymatiques nécessaires au passage du sulfate inorganique vers les molécules réceptrices étaient localisés dans les corps de Golgi.

D'autre part, dans une étude menée toujours par voie autohistoradiographique, non plus chez la souris mais chez l'alevin de truite arc-en-ciel (Salmo irideus L.), pris avant le stade de la résorption de la vésicule vitelline et laissé pendant un temps bref (15 minutes) dans un milieu contenant 500 μ Ci de $Na_2{}^{35}SO_4$, nous avons abouti aux conclusions suivantes : les alevins à ce stade sont capables de métaboliser le sulfate de l'eau. Ils concentrent l'isotope au niveau des membranes de l'œil, des parois du tube digestif et de certaines parties de la nageoire caudale (rayons). Ces résultats sont présentés sur la planche XII. Cela montre donc que même chez les vertébrés inférieurs, le radiosulfate pénètre à l'intérieur de l'organisme et se répartit dans les organes riches en mucosubstances.

Signalons pour terminer, que nous nous sommes posés la question de savoir si le sulfate injecté pouvait être utilisé pour la synthèse d'acides aminés soufrés plasmatiques. Nous avons pour cela isolé ces amino-acides par chromatographie sur colonne en utilisant la méthode de MOORE, SPACKMAN et STEIN, adaptée à l'autoanalyseur Technicon (*). Dans nos conditions expérimentales, le radiosulfate ne semble pas être intégré dans ces structures soufrées. En effet, les différentes fractions éluées recueillies toutes les 2 minutes, ne présentent en scintillation liquide aucune radioactivité.

Nous avons aussi, chez des animaux traités réalisé des électrophorèses de protéines sériques sur gel de polyacétate de

(*) Nous remercions M. le Professeur J. C. GODFRAIN, du laboratoire de Pharmacie-Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, qui a mis l'appareil à notre disposition et M^me^ DE SAQUI, qui a effectué les chromatographies.

cellulose (**) et recherché la présence de protéines soufrées par autoradiographie des électrophorégrammes. Là encore, nos résultats ont été négatifs.

322 — *Etude menée chez des femelles gestantes :*

Les autoradiogrammes montrent que chez la souris en gestation, la répartition de la molécule se fait aussi très rapidement puisque 5 minutes après l'injection, la majeure partie des organes est imprégnée. En outre, tout l'organisme fœtal fixe légèrement la radioactivité. Le radiosulfate franchit donc la barrière placentaire, ce qui s'explique fort bien en raison de la placentation hémochoriale de la souris.

Chez le fœtus, la répartition de l'isotope est rapide puisqu'au bout d'une heure, tous les organes sont bien marqués. Ce sont surtout les cartilages qui sont particulièrement imprégnés (cartilages intervertébraux, intersternébraux, des os...). Cette fixation cartilagineuse est constante jusqu'à la naissance. Après celle-ci, on constate que les jeunes nés d'une mère ayant reçu du radiosulfate ont concentré de grosses quantités de radiosulfate au niveau des cartilages. Cette concentration persiste longtemps puisque 30 jours après la naissance, on trouve une radioactivité moyenne. Ceci est vraisemblablement en rapport avec le stade de formation des tissus cartilagineux et les importantes capacités anaboliques des chondrocytes des jeunes animaux. Outre cette concentration importante de radioactivité au niveau des cartilages des très jeunes animaux, on décèle une imprégnation moyenne dans le foie et les muscles.

Chez la femelle gestante, la seule différence que l'on note dans la répartition du radiosulfate dans l'organisme, réside dans le fait qu'il n'y a pratiquement pas de fixation rapide au niveau des cartilages alors que nous avons vu que les cartilages semblent jouer le rôle de récepteurs vis-à-vis de cet anion. Cette absence de fixation dure 24 heures. A partir de ce moment, les cartilages sont imprégnés, cette imprégnation étant maximale 96 heures

(**) Les électrophorèses ont été réalisées par le système microzone Beckman. Les lectures ont été faites avec l'Analytrol Beckman. Nos remerciements sont acquis à M. le Professeur SAURAT, du laboratoire de Maladies Contagieuses, qui nous a ouvert son laboratoire.

après l'injection. Tout semble se passer comme si, du fait des grandes propriétés anaboliques des chondrocytes du fœtus, le radiosulfate ne se fixe chez la mère qu'une fois les récepteurs fœtaux saturés. Cette saturation des récepteurs chez le jeune *in utero* semble être obtenue en 24 heures environ.

Enfin si l'on compare cette élimination chez le fœtus et la femelle gestante, on remarque que :

— la fixation cartilagineuse est nettement supérieure chez le fœtus,

— la concentration du radiosulfate dans le muscle, le tégument et le cerveau est plus importante chez le fœtus,

— la radioactivité intestinale urinaire est plus importante chez la mère.

CONCLUSION

Le $^{35}SO_4^{--}$ se répartit très rapidement dans l'organisme de la souris, quelle que soit la voie d'administration. Peu de temps après l'injection (15 à 30 minutes), il est fortement éliminé dans le contenu intestinal donc dans le milieu extérieur. Cette élimination, très importante, est terminée 24 heures après l'administration.

L'ion sulfate ne passe pratiquement pas dans le système nerveux central qui possède cependant des composantes du secteur interstitiel lacunaire et vasculaire.

Ces résultats confirment donc ce que d'autres auteurs avaient déjà pressenti [1, 146] à savoir que l'ion sulfate n'a pas un métabolisme strictement extracellulaire chez la souris.

Ainsi, est remise en question l'idée expérimentale de WALSER [258-259] qui avait préconisé l'utilisation de cet anion marqué pour la détermination du secteur extracellulaire, et reposé alors le problème du choix de la molécule marquée pour de telles évaluations.

De notre étude, il ressort aussi que les cartilages jouent vis-à-vis du sulfate un rôle d'organe cible. Le stade d'évolution des cartilages intervient cependant. Ce sont les jeunes animaux qui vraisemblablement du fait de leurs grandes activités anaboliques, fixent le plus rapidement et le plus longtemps, le radiosulfate au niveau de leurs tissus cartilagineux.

Enfin, l'ensemble de ce travail démontre, si cela était encore nécessaire, que les techniques autoradiographiques permettent d'obtenir d'excellents renseignements quant au métabolisme d'un produit marqué. Ces techniques sont cependant limitées dans leurs possibilités, en particulier par les caractéristiques des émulsions. Il est donc évident qu'elles doivent être complétées par des mesures en scintillation liquide, plus précises et plus quantitatives. Nous nous efforçons cependant à l'heure actuelle, de mettre au point des modalités techniques qui nous permettront d'interpréter quantitativement nos autoradiogrammes; cela augmenterait grandement l'intérêt de l'autoradiographie.

RÉSUMÉ

Ce travail est une étude par les techniques autoradiographiques du métabolisme de l'ion sulfate marqué au ^{35}S chez la souris. Les techniques utilisées s'inspirent de celle de Ullberg, pour l'autoradiographie macroscopique, de Doniach et Pelc pour l'autohistoradiographie.

Tous les animaux ont reçu 200 μ Ci/kg de poids vif de sulfate de sodium marqué.

Dans tous les cas, le SO_4^{--} se fixe pour une part fortement au niveau des cartilages, très faiblement au niveau du S.N. central, l'autre part étant éliminée par voie intestinale et urinaire.

Cela montre que le radiosulfate ne présente pas une distribution strictement extracellulaire et que son utilisation pour la détermination d'un tel secteur doit être assortie de réserves certaines.

LÉGENDE DES PLANCHES

1. Tégument.
2. Follicules pileux des vibrisses.
3. Graisse brune dorsale.
4. Cuisse droite.
5. Encolure.
6. Site d'injection.
7. Encéphale.
8. Cervelet.
9. Bulbe rachidien.
10. Moelle épinière cervicale.
11. Œil.
12. Cœur.
13. Aorte antérieure.
14. Aorte abdominale.
15. Vaisseaux hépatiques.
16. Trachée artère.
17. Cartilages de la trachée.
18. Poumons.
19. Bouche.
20. Estomac.
21. Poche à air de l'estomac.
22. Duodénum.
23. Anses intestinales.
24. Rectum.
25. Cœcum.
26. Foie.
27. Vésicule biliaire.
28. Glande sous-maxillaire.
29. Parenchyme du rein.
30. Bassinet.
31. Vessie.
32. Testicule.
33. Côtes.
34. Atlas.
35. Vertèbres cervicales.
36. Vertèbres dorsales.
37. Vertèbres coccygiennes.
38. Cartilages intervertébraux.
39. Coxal.
40. Fémur droit.
41. Tête fémorale.
42. Sternum.
43. Cartilages intersternébraux.
44. Appendice xiphoïde.
45. Manubrium.
46. Calotte placentaire.
47. Fœtus.
48. Œil de fœtus.
49. Bouche d'un fœtus.
50. Patte arrière d'un fœtus.
51. Côtes d'un fœtus.
52. Sternum d'un fœtus.
53. Encéphale d'un fœtus.
54. Loge utérine vide.
55. Diaphragme.
56. Mandibule.
57. Ilium.
58. Vertèbres dorsales.
59. Urètre.
60. Oreille d'un fœtus.
61. Fœtus engagé dans la filière pelvienne.
62. Tête de fœtus.
63. Fémur de fœtus.

LISTE DES PLANCHES PHOTOGRAPHIQUES

Planches I, II, III	:	Répartition de la radioactivité chez l'animal adulte après administration par voie veineuse.
Planche IV	:	Répartition du sulfate marqué chez les jeunes.
Planches V, VI, VII	:	Répartition du radio-sulfate chez les animaux ayant ingéré de fortes teneurs de sulfate de sodium.
Planches VIII, IX, X, IX	:	Répartition chez la femelle gestante.
Planche XII	:	Résultats obtenus par auto-histo-radiographie.

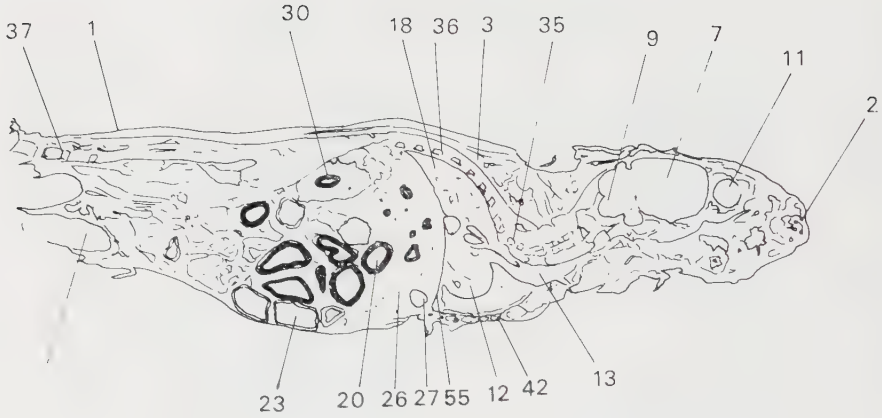


PLANCHE I

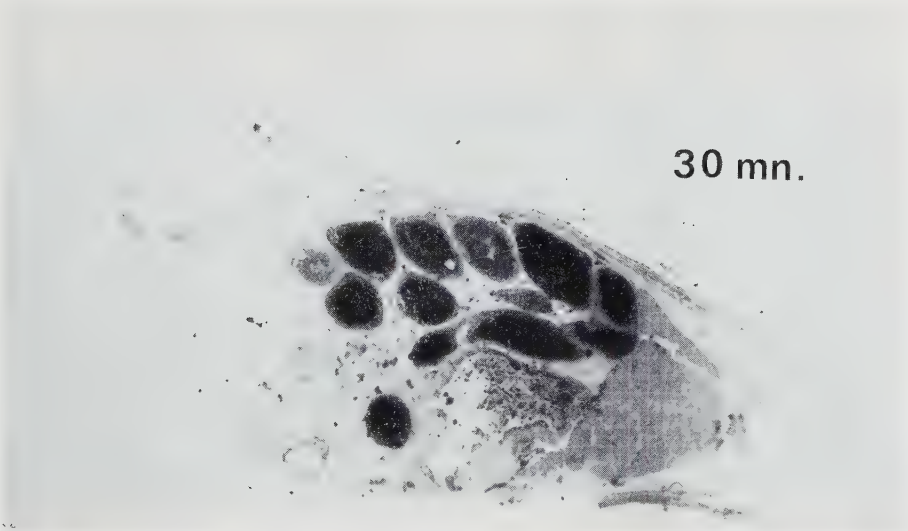
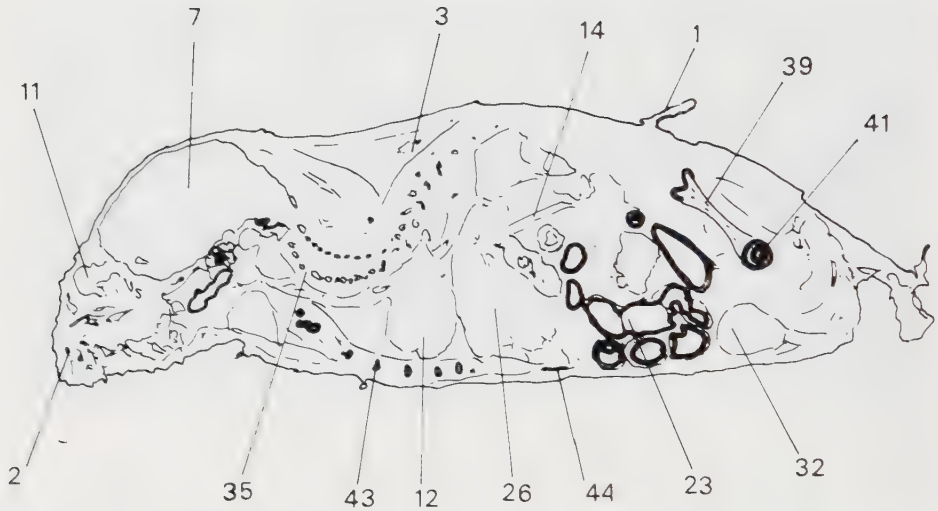


PLANCHE I


7
3
14
1
39
11
41
2
35
43
12
26
44
23
32

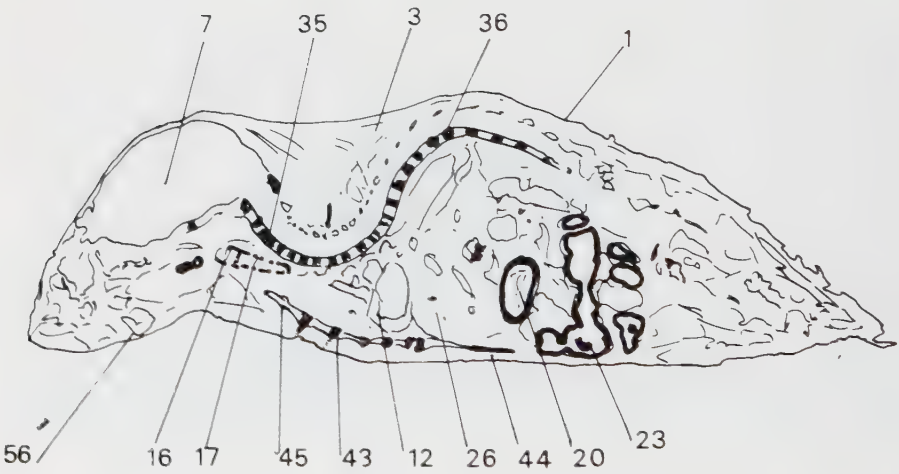
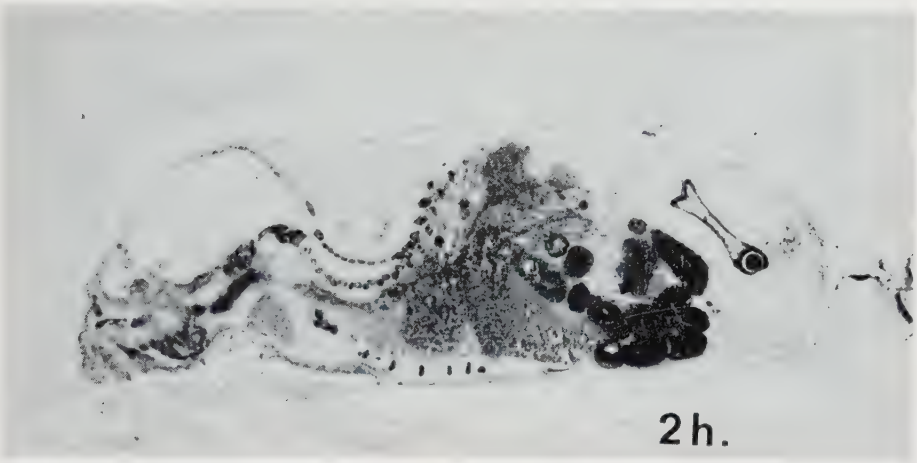

7
35
3
36
1
56
16
17
45
43
12
26
44
20
23

PLANCHE II



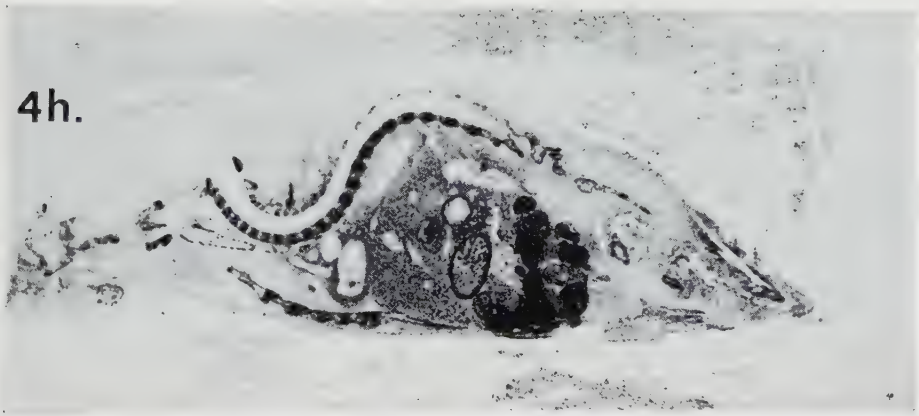
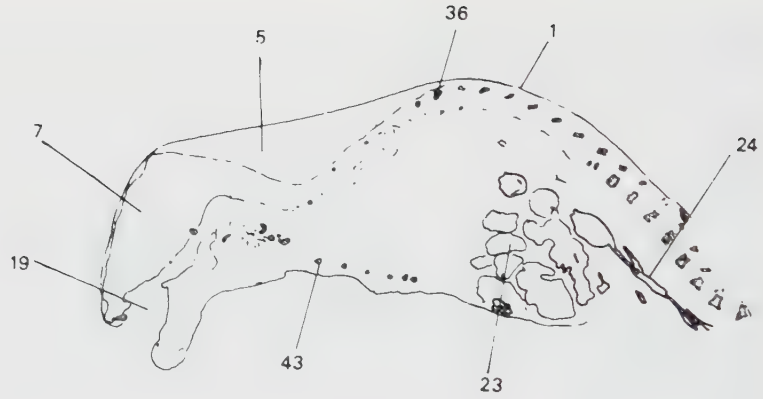


PLANCHE II



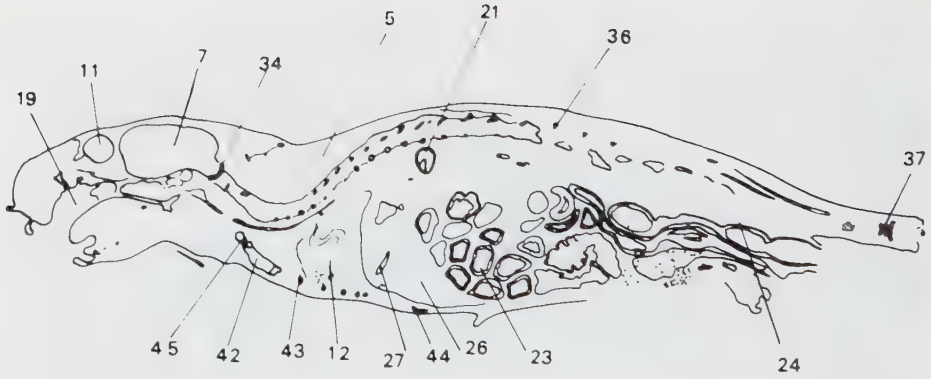
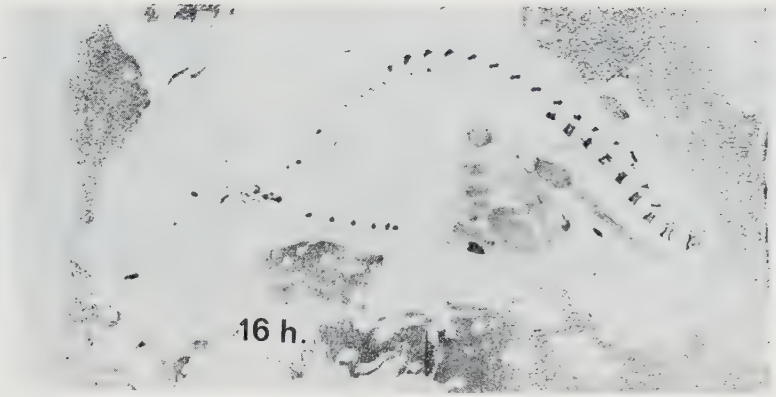


PLANCHE III



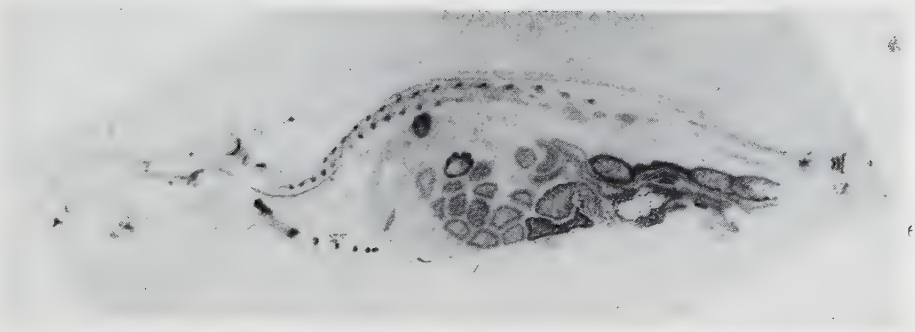
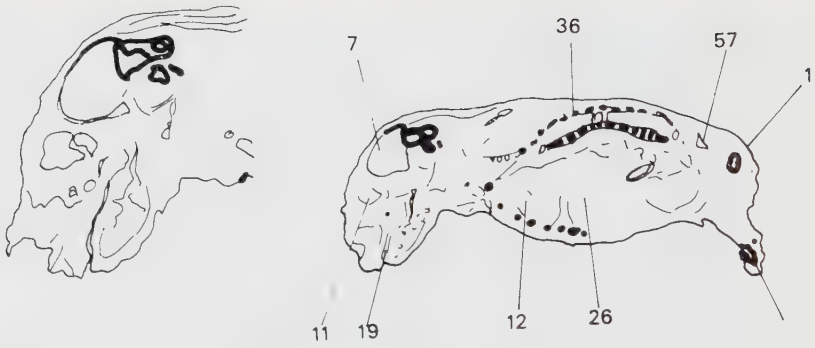


PLANCHE III



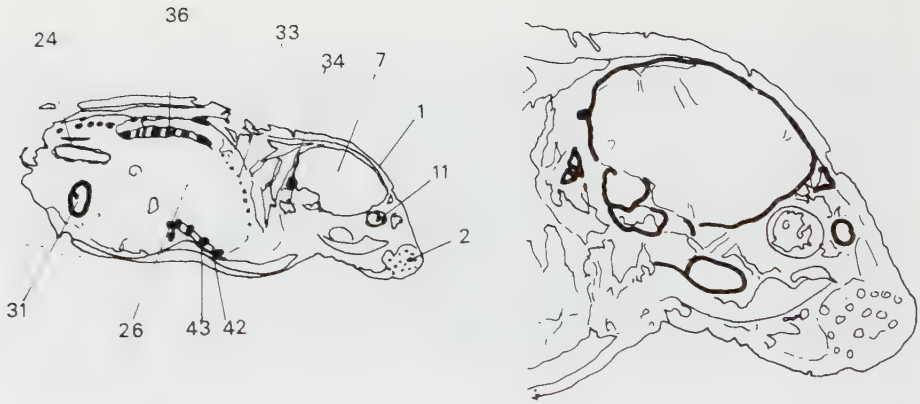
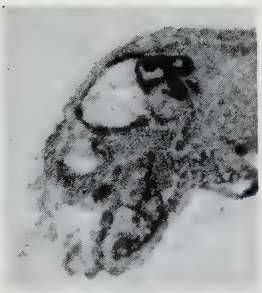
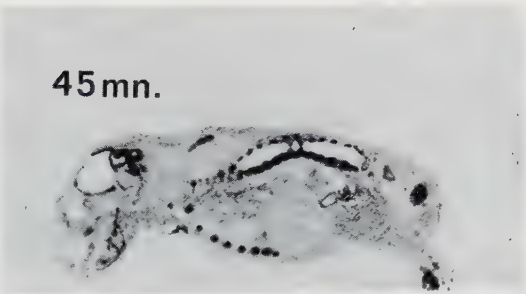
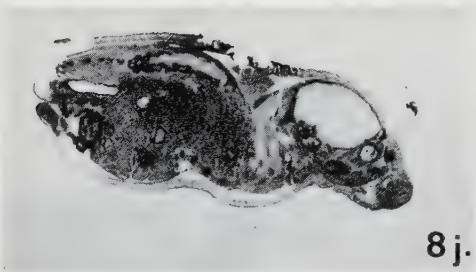
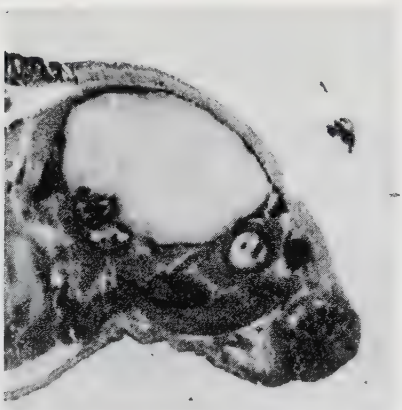


PLANCHE IV









Remarquer sur les agrandissements, la radioactivité au niveau du cerveau.

PLANCHE IV

2
7
8
5
3
33
14
29
30
39
1
19
28
45
42
12
27
44
26
23
32

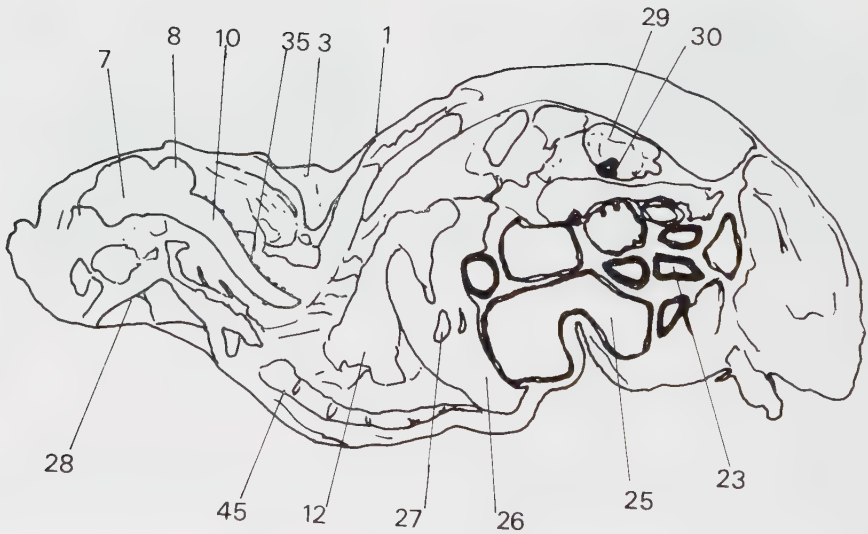
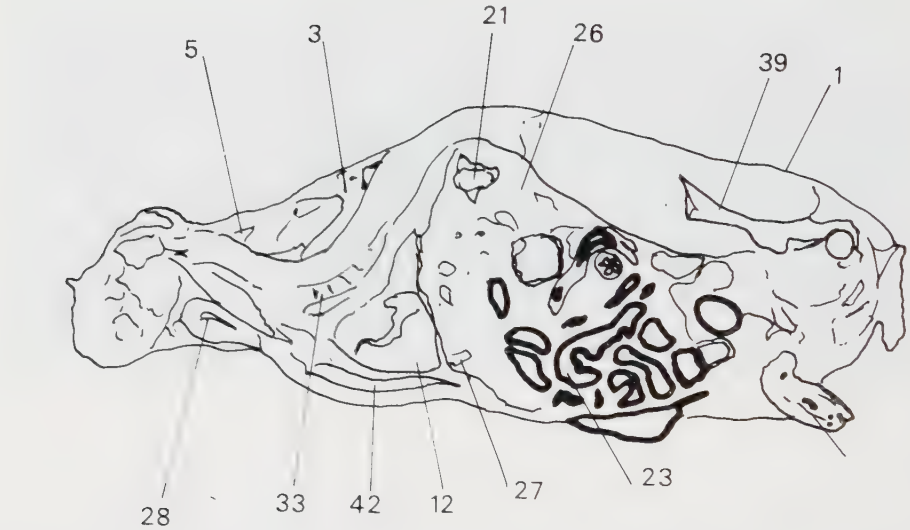

7
8
10
35
3
1
29
30
28
45
12
27
26
25
23

PLANCHE V

PLANCHE V


5
3
21
26
39
1
28
33
42
12
27
23

11
7
10
18
29
30
39
1
28
45
42
12
26
27
44
23

PLANCHE VI

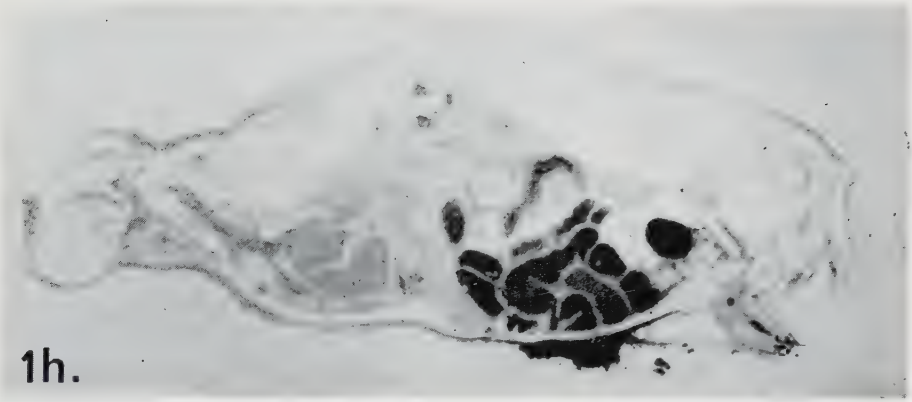
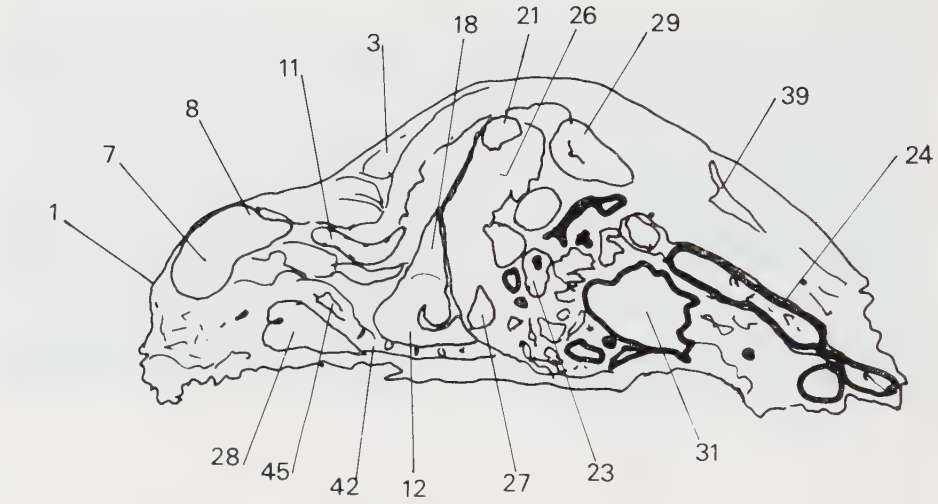


PLANCHE VI


18
21
26
29
3
11
39
8
24
7
1
28
45
42
12
27
23
31

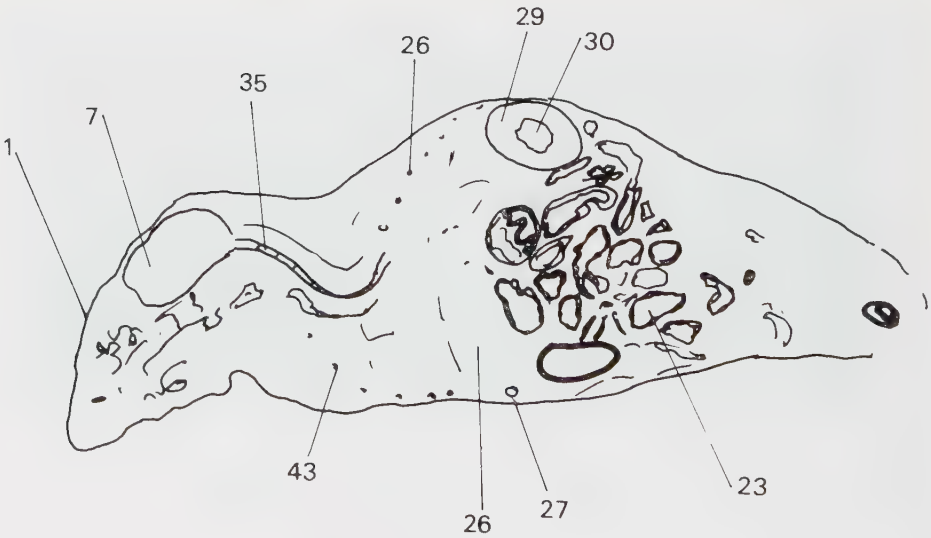
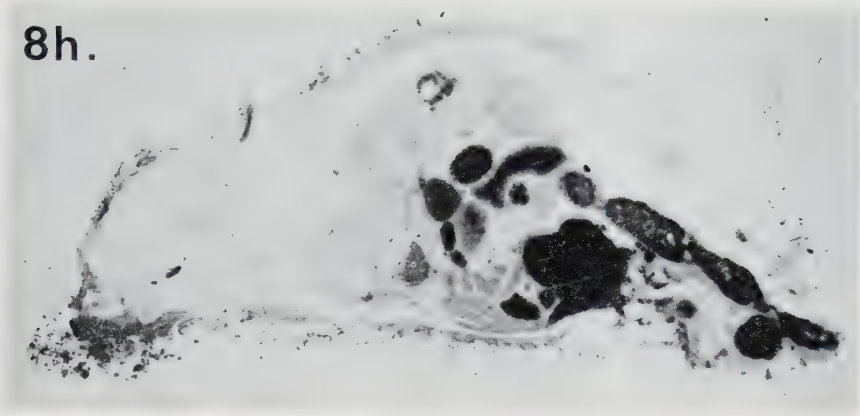

29
26
30
35
7
1
43
26
27
23

PLANCHE VII



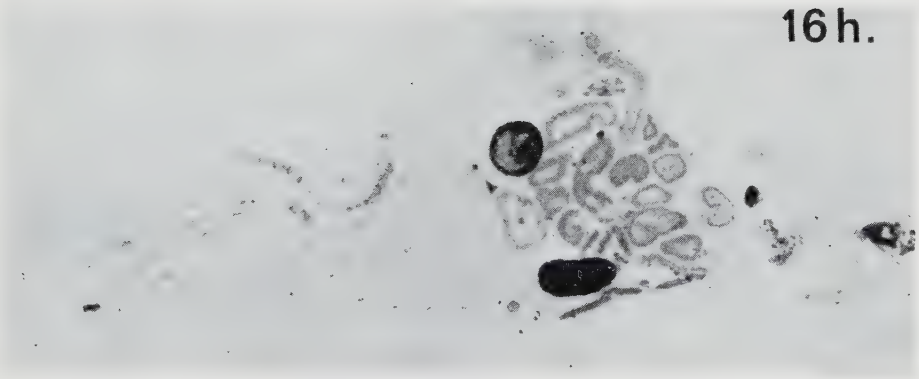
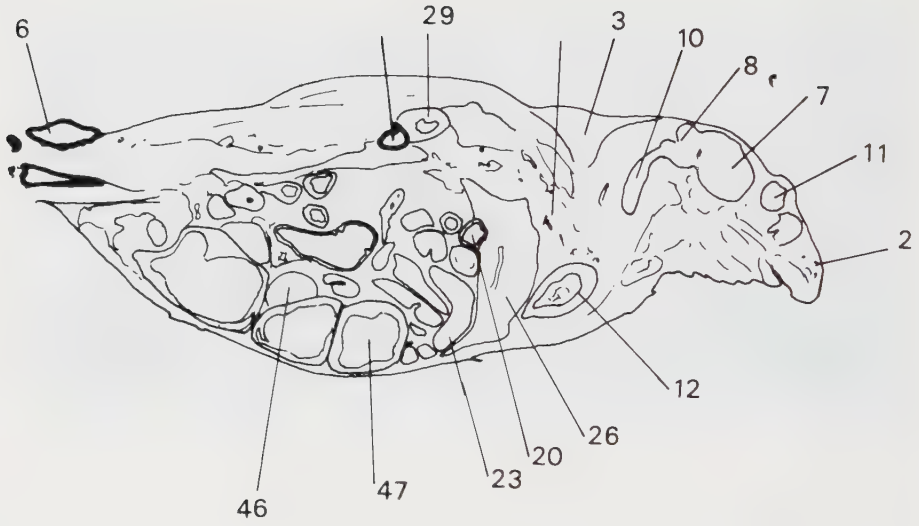


PLANCHE VII



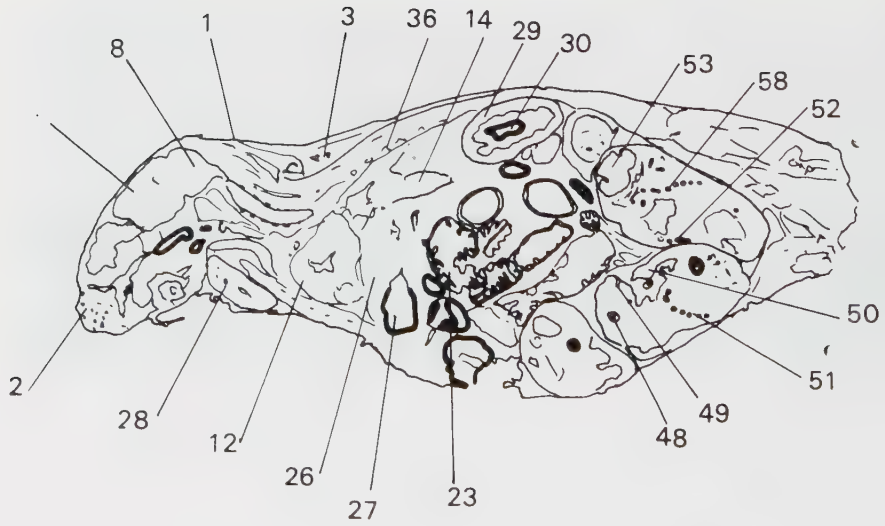
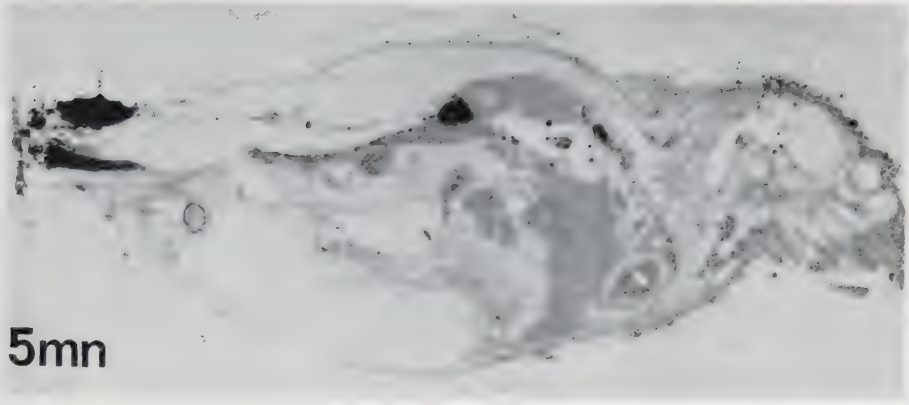


PLANCHE VIII



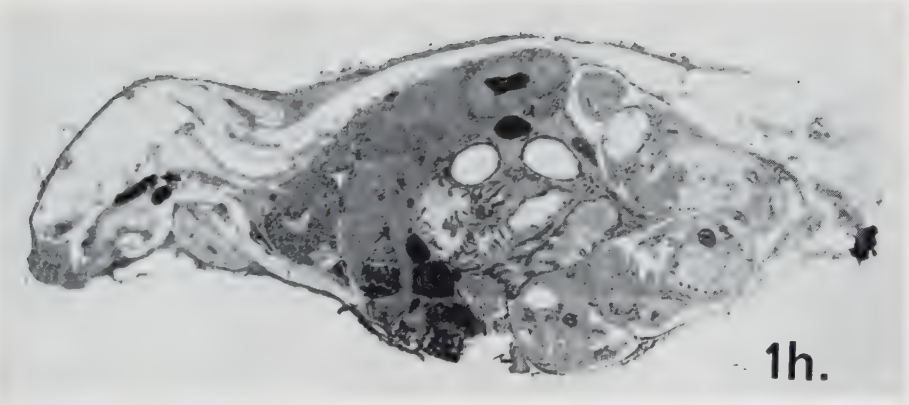
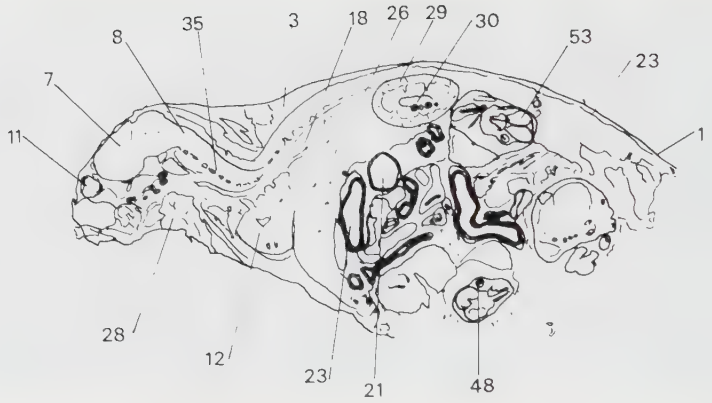


PLANCHE VIII


35
3
18
26
29
30
53
23
8
7
11
1
28
12
23
21
48

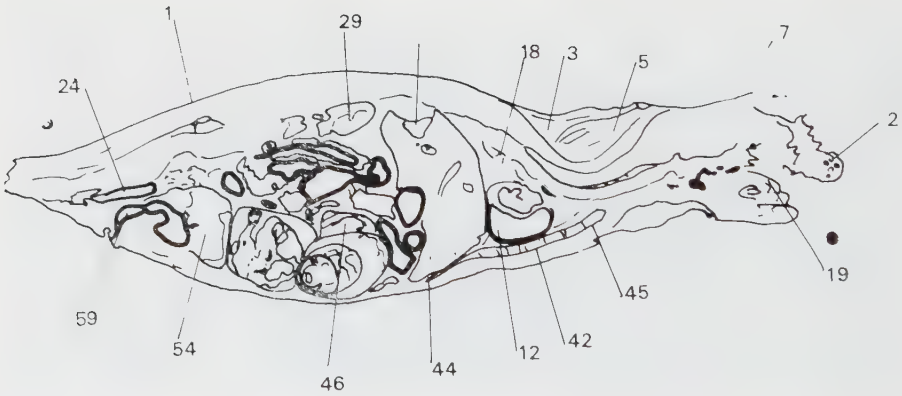

1
29
18
3
5
7
24
2
19
45
59
54
46
44
12
42

PLANCHE IX

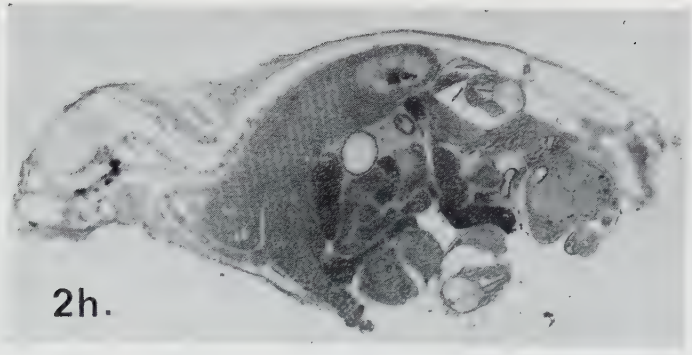


PLANCHE IX

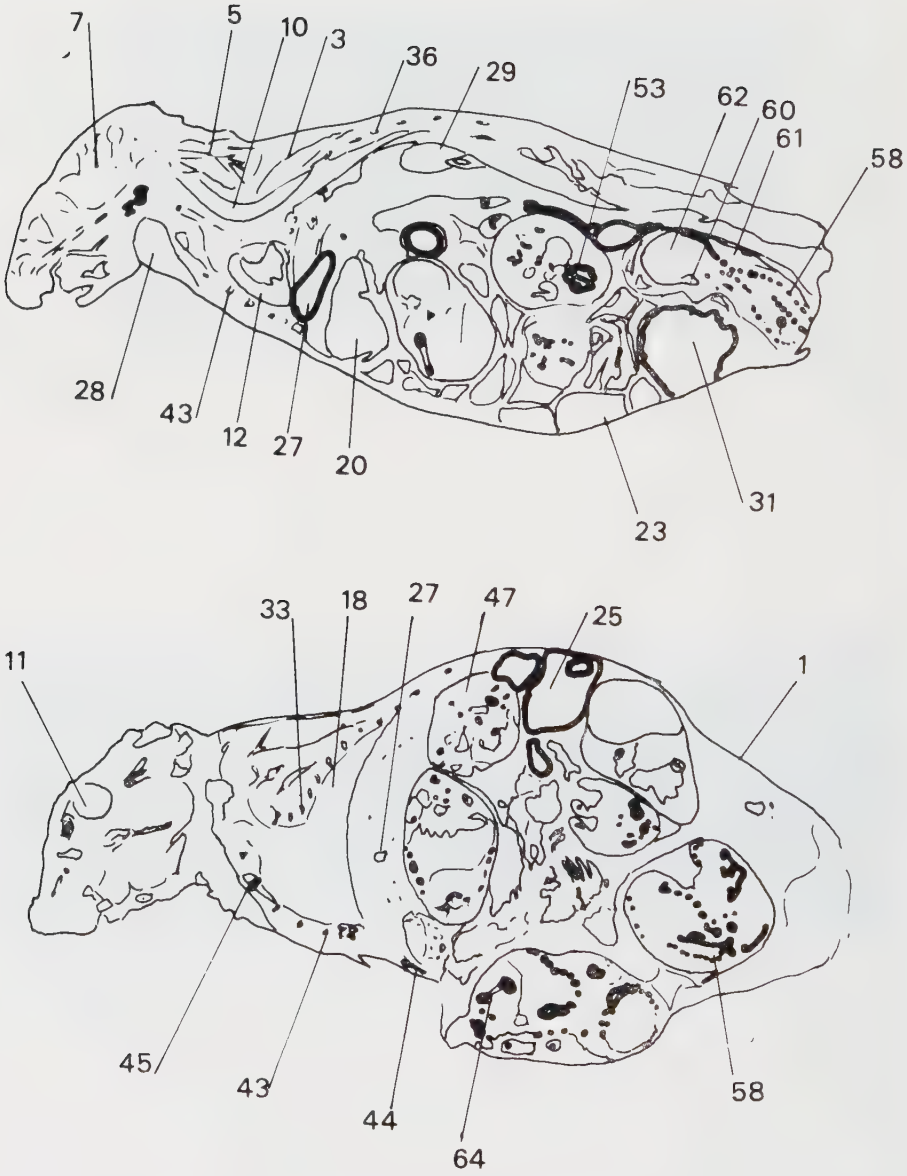
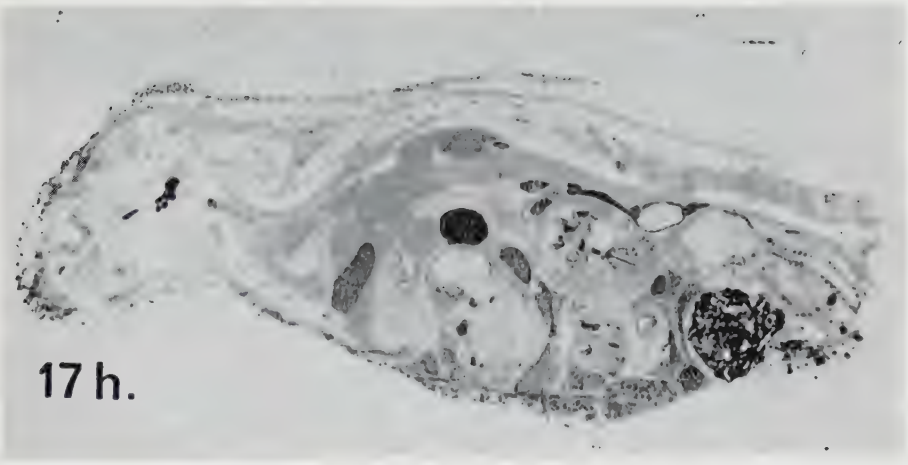

7
5
10
3
36
29
53
62
60
61
58
28
43
12
27
20
23
31
33
18
27
47
25
11
1
45
43
44
64
58

PLANCHE X



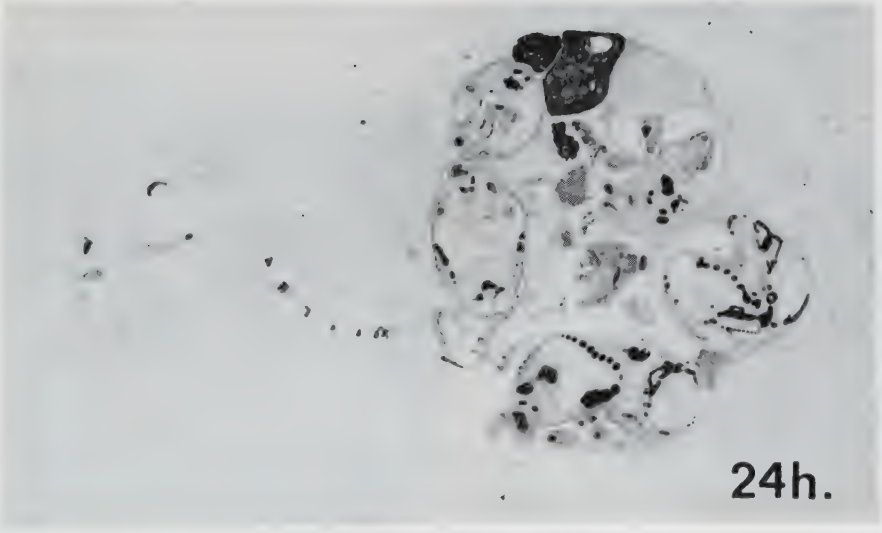
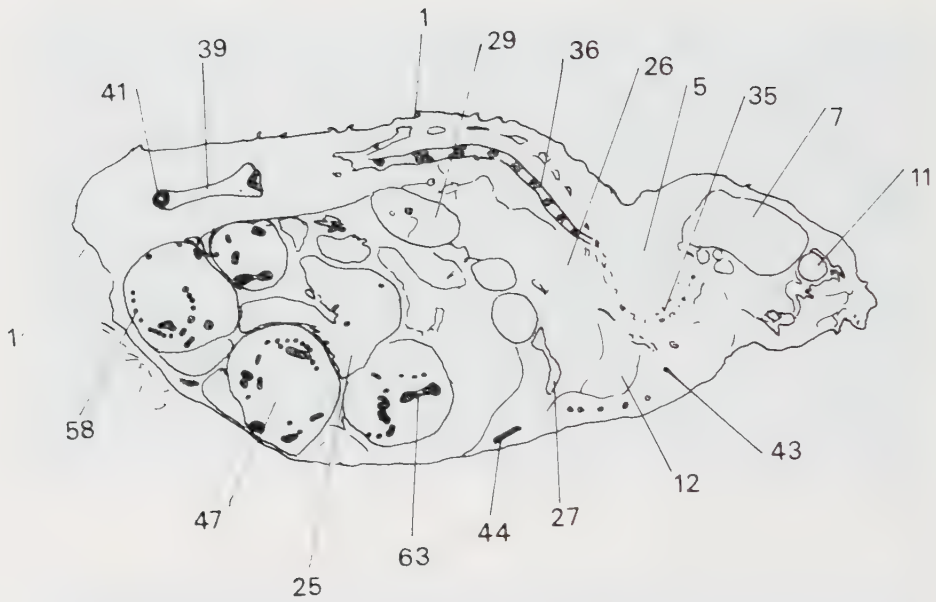
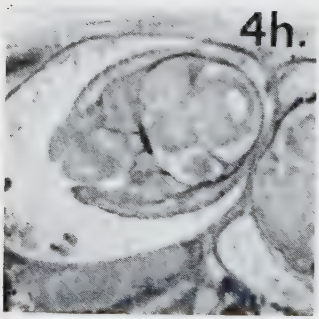


PLANCHE X





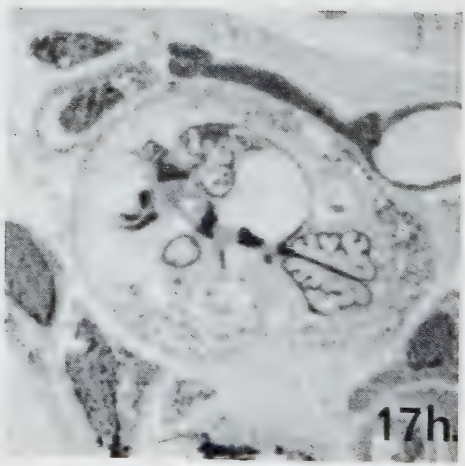
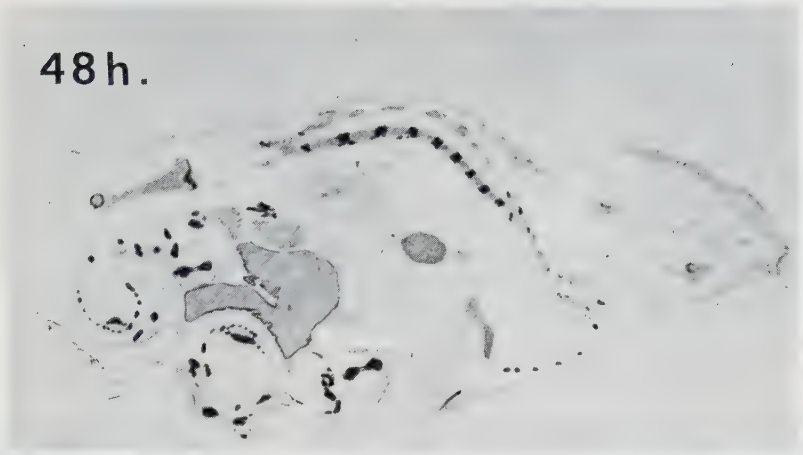
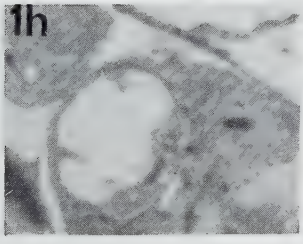
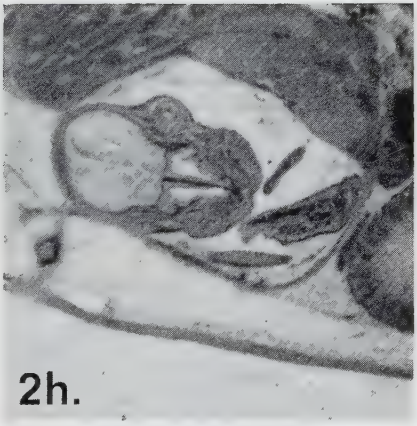


PLANCHE XI







Noter sur les agrandissements ci-dessus, la concentration de la radioactivité dans l'encéphale des fœtus.

PLANCHE XI

PHOTOGRAPHIE N° 1. — Cartilage xiphoïde de souris injectée par voie veineuse ($Na_2{}^{35}SO_4$: 200 μ Ci/kg). Temps de survie : 15 minutes. Coloration de Lillie-Pasternack (G × 40).

PHOTOGRAPHIE N° 2. — Détail (G × 400).

Noter la présence de radioactivité (flèches noires) dans le cartilage.

PHOTOGRAPHIE N° 3. — Détail (G × 1600).

Mise au point sur la coupe histologique.

PHOTOGRAPHIE N° 4. — Détail (G × 1600).

Mise au point sur l'émulsion. Les grains d'argent révélés apparaissent nettement.

PHOTOGRAPHIE N° 5. — Alevin de truite de 5 jours laissé pendant 15 minutes dans 5 ml d'eau contenant 500 μ Ci de $Na_2{}^{35}SO_4$.

Noter la présence de radioactivité à l'extérieur de l'œil et sur le tégument.

Coloration de Lillie-Pasternack (G × 40).

PHOTOGRAPHIE N° 6. — Détail (G × 400).

Il nous est agréable de remercier M. le Professeur G. QUÉINNEC, *qui a mis le matériel de son laboratoire à notre disposition et* Mme BERLAND, *qui a réalisé les photographies de nos autoradiogrammes.*

PLANCHE XII

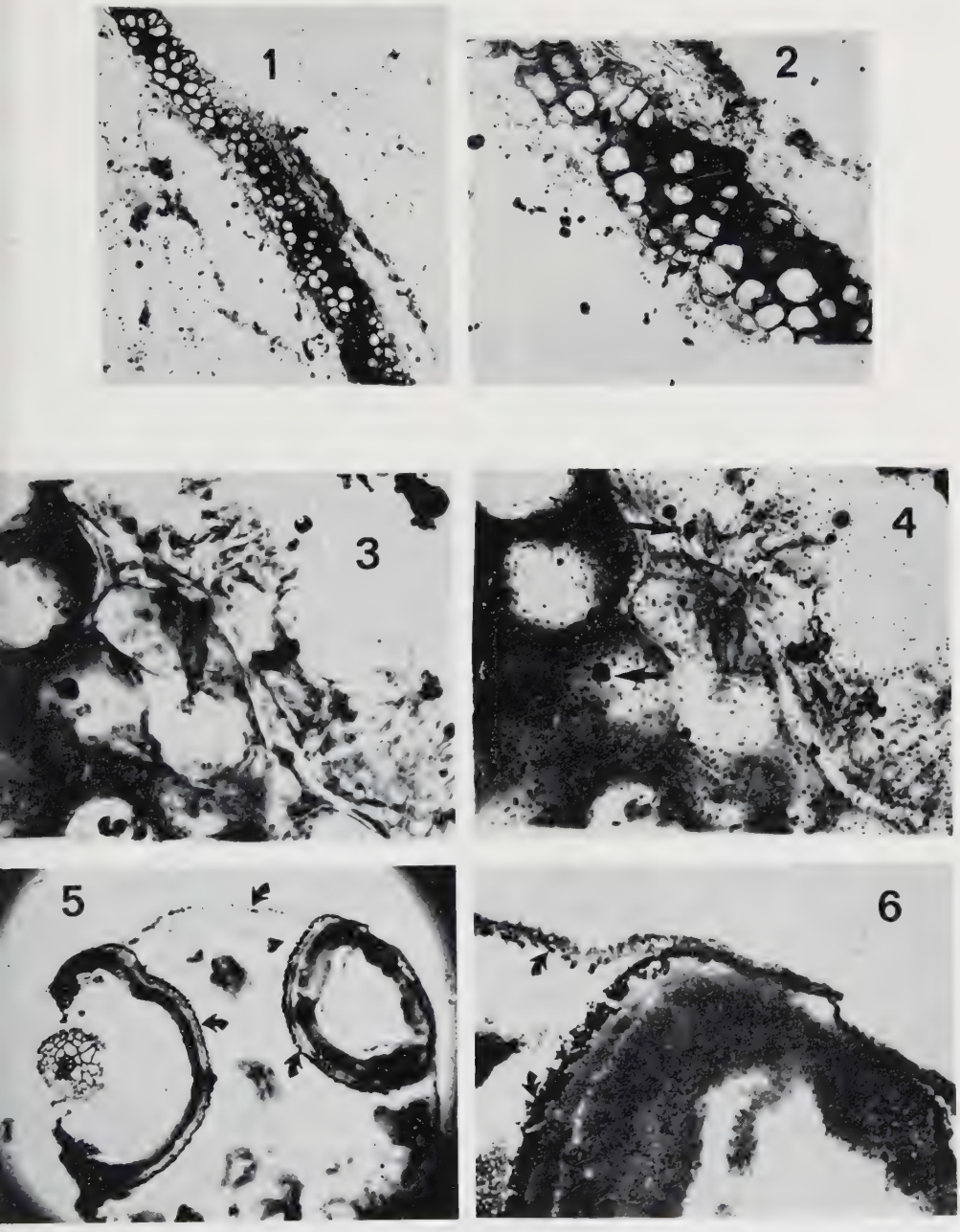


PLANCHE XII

VU : *Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire, rapporteur :*

P[r] RICO.

VU : *Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire :*

P[r] LAUTIÉ.

VU : *Le Président de la Thèse :*

P[r] DOUSTE-BLAZY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER.

Toulouse, le 16 janvier 1975.

Le Président de l'Université Paul-Sabatier :

P[r] LARENG.

BIBLIOGRAPHIE

1. Agasse (J. C.). — Contribution à l'étude des secteurs hydriques du mouton à l'aide des radioéléments. Thèse Doct. vét., Toulouse, 1971, 63 p.

2. Aitken (W. M.), Wright (E.) et Gray (H. S.). — Autoradiography of water-diffusible substances in sections of whole baby rats. Stain Technol., 1968, **43**, 1-7.

3. Albanus (L.), Hammarström (L.), Sundwall (A.), Ullberg (S.) et Vangbo (B.). — Distribution and metabolism of ^{3}H atropine in mice. Acta Physiol. scand., 1968, **73**, 447-456.

4. Amin (S. R.) et Gupta (B. L.). — Estimation of sulphur content in human hair and nail for use in fast neutron dosimetry. Health Phys., 1972, **23**, 243-244.

5. Amprino (R.). — Autoradiographic research of the ^{35}S sulfate metabolism in cartilage and bone differenciation and growth. Acta Anat., 1955, **24**, 121-163.

6. Appleton (T. C.). — Resolving power, sensibility and latent image fading of soluble-compound autoradiographs. J. Histochem. Cytochem., 1966, **14**, 414-420.

7. Arnold (J. S.). — An improved technic for liquid emulsion autoradiography. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1954, **85**, 113-116.

8. Bader (A. V.) et Steinberg (R. L.). — A photographic developing unit for use in autoradiographic electron microscopy. Stain. Technol., 1972, **47**, 213-214.

9. Barber (S.) et Barrington (E. J. W.). — Dynamics of uptake and binding of ^{35}S-sulphate in the cartilage of Rainbow trout (Salmo gairdneri) and the influence of thyroxine. J. Zool., 1972, **168**, 107-117.

10. Baserga (R.) et Nemeroff (K.). — Factors which affect efficiency of autoradiography with tritiated thymidine. Stain Technol., 1962, **37**, 21-25.

11. Beckel (W. E.). — Sectioning large heavily sclerotized whole insects. Nature, 1959, **184**, 1584-1585.

12. Becquerel (H.). — Sur les radiations émises par phosphorescence. C. R. Acad. Sci., 1896, **122**, 420-421.

13. Becquerel (H.). — Sur les radiations émises par les corps phosphorescents. C. R. Acad. Sci., 1896, **122**, 501-503.

14. Becquerel (H.). — Sur quelques propriétés nouvelles des radiations invisibles émises par divers corps phosphorescents. C. R. Acad. Sci., 1896, **122**, 559-564.

15. Becquerel (H.). — Sur les propriétés différentes des radiations invisibles émises par les sels d'uranium, et du rayonnement de la paroi anticathodique d'un tube de Crookes. C. R. Acad. Sci., 1896, **122**, 762-767.

16. Becquerel (H.). — Observations relatives à la réponse de M. Charles Henry. C. R. Acad. Sci., 1896, **122**, 1086-1088.

17. Becquerel (H.). — Emission de radiations nouvelles par l'uranium métallique. C. R. Acad. Sci., 1896, **122**, 1086-1088.

18. Belanger (L. F.) et Leblond (C. P.). — A method for locating radioactive elements in tissues by covering histological sections with a photographic emulsion. Endocrinol., 1940, **39**, 8-13.

19. Belanger (L. F.). — Autoradiographic visualization of the entry and transit of ^{35}S in cartilage, bone and dentine of young rats and the effect of hyaluronidase in vitro. Canad. J. Biochem. Phys., 1954, **32**, 161-169.

20. Belanger (L. F.). — Staining processed radioautographs. Stain Technol., 1961, **36**, 313-317.

21. Benakis (A.). — Techniques de la scintillation liquide appliquées à l'étude du métabolisme des médicaments. Symposium sur les progrès des techniques nucléaires en pharmacodynamie. Saclay, 11-13 mars 1970, 1 vol. Masson et C^ie^, Paris, 1971.

22. Berman (E. R.) et Saliternick-Givant (S.). — Incorporation of ^{35}S sulfate into specific corneal mucopolysaccharides. Int. Congr. Biochem. New York, 1964, 563.

23. Bessis (M.). — Cellules du sang normal et pathologique. 1 vol. Masson et C^ie^ Ed. Paris, 1972.

24. Bianchi (N.), Lima de Faria (A.) et Jaworska (H.). — A technic for removing silver grains and gelatin from tritium autoradiographs of human chromosomes. Hereditas, 1965, **51**, 207-211.

25. Bird (P. R.) et Moir (R. I.). — Sulphur metabolism and excretion studies in ruminants. I-The absorption of sulphate in sheep after intra ruminal or intra duodenal infusions of sodium sulphate. Austr. J. biol. Sci., 1971, **24**, 1319-1328.

26. Blanc (D.). — Les radioéléments : production, dosage et applications. 1 vol. Masson et C^ie^ Ed., 1966.

27. Blanckaert (D.) et Lefebvre (J. C.). — Incorporation du sulfate $S^{35}O_4$ dans les fibroblastes de malades. Arch. franç. Péd., 1974, **31**, 77-79.

28. Boomgaardt (J.) et Baker (D. H.). — Effect of age on the lysine and sulfur amino acid requirement of growing chickens. Poultry Sci., 1973, **52**, 592-597.

29. Bostrom (H.). — On the metabolism of sulfate group of chondroïtin sulfuric acid. J. biol. Chem., 1952, **196**, 477-481.

30. Bostrom (H.) et Aquist (S.). — Utilization of ^{35}S labelled sodium sulfate in the synthesis of sulphuric acid, taurine, methionine and cystine. Acta chem. scand., 1952, **6**, 1557-1559.

31. Bostrom (H.), Odeblad (E.) et Friberg (U.). — Qualitative and quantitative autoradiographic study on uptake of ^{35}S labelled sodium sulfate in skin of adult rats. Acta path. microbiol. scand., 1953, **32**, 516-521.

32. Bostrom (H.) et Odeblad (E.). — Autoradiographic observations on the incorporation of labelled sodium sulfate in the rabbit fetus. Anat. Record, 1953, **115**, 505-511.

33. Boukhris (M.). — Localisation histo-autoradiographique du $^{35}SO_4^{--}$ dans les tissus de l'Erodium glaucophyllum (L.) et de la Moricandia arvensis (L.). C. R. Acad. Sci., 1972, **275**, 2651-2654.

34. Bourdillon (J.) et Lavietes (P. H.). — Observations on the fate of sodium sulfate injected intravenously in man. J. clin. Invest., 1936, **15**, 301-311.

35. Boyd (G. A.) et Board (F. A.). — A preliminary report on histochemography. Science, 1949, **110**, 586-588.

36. Brachet (J.) et Mirsky (A. E.). — Autoradiography. In « The Cell », 1 vol. New York - London. Academic Press Ed., 1959, 67-90.

37. Bray (A. C.). — Sulphur metabolism in sheep. I-Preliminary investigations in the movement of sulphur in the sheep's body. Austr. J. agr. Res., 1969, **20**, 725-737.

38. Brown-Grant (K.), Pethes (G.) et Rogers (A. W.). — Autoradiography of tissues containing water soluble radioactive isotopes. J. Physiol., 1960, 44 P. - 46 P.

39. Bubel (H. C.) et Bonventre (P. F.). — Apparatus for preparation of whole animal sections for autoradiography. J. Lab. clin. Med., 1963, **61**, 324-328.

40. Bugnard (L.). — Les utilisations des isotopes comme indicateurs. Applications à la pharmacologie. Actualités pharmacologiques, 6e série, 51-59, 1 vol., Masson et Cie, Paris 1953.

41. Bunting (H.). — Distribution of acid mucopolysaccharids in mammalian tissues as revelated by histochemical methods. Ann. New York Acad. Sci., 1950, **52**, 977-982.

42. Byington (M. H.) et Howe (J. M.). — Effect of level and proportion of methionine and cystine on plasma aminoacids of youngs rats. J. Nutr., 1972, **102**, 995-1000.

43. Campbell (D.) et Person (B. H.). — Use of track autoradiography in studies of sulfate metabolism of connective tissues. Preliminary results obtained on adult cartilage. Experientia, 1951, **7**, 304-306.

44. Caro (L. G.) et Van Tubergen (R. P.). — High resolution autoradiography. I-Method. J. Cell. Biol., 1962, **15**, 173-188.

45. Caro (L. G.). — High resolution autoradiography. II-The problem of resolution. J. Cell. Biol., 1962, **15**, 189-199.

46. Caro (L. G.). — A common source of difficulty in high resolution radioautography. J. Cell. Biol., 1969, **41**, 918-919.

47. Chamberlain (J.), Hughes (A.), Rogers (A. W.) et Thomas (G. H.). — An evaluation of the available techniques for the autoradiography of tritium on chromatograms. Nature, 1964, **201**, 774-775.

48. Chevalier (G.) et Collet (A. J.). — Cytophysiologie du pneumocyte. II - Etude autoradiographique au microscope électronique. Rev. franç. Malad. respi., 1973, **1**, 397-410.

49. Chmelar (V.). — Autoradiographic techniques for sections of small laboratory animals. Folia Morphol., 1966, **14**, 315-318.

50. Christman (D. R.). — Choosing a method for counting soft betas. Nucleonics, 1961, **19**, 51-55.

51. Clemedson (C. J.), Sorbo (B.) et Ullberg (S.). — Autoradiographic observations in injected ^{35}S-thiocyanate and ^{14}C-cyanide in mice. Acta Physiol. scand., 1960, **48**, 382-389.

52. Cobb (J.) et Solomon (A. K.). — The detection of beta-radioactivity by photographic film. Rev. sci. Inst., 1948, **19**, 441-447.

53. Cohen (Y.) et Delassue (H.). — Modifications de la méthode d'autoradiographie de S. Ullberg sur coupes de souris entières. C. R. Soc. Biol., 1959, **153**, 300-304.

54. Cohen (Y.) et Delassue (H.). — Etude comparative du métabolisme du ^{35}S chez la souris après administration par voie orale ou sous-cutanée de radiosulfate et de radiosulfure de sodium. C. R. Soc. Biol., 1959, **153**, 999-1003.

55. Cohen (Y.). — Problèmes de pharmacodynamie générale abordés à l'aide de radio-éléments. Actualités pharmacologiques, 15e série, 45-98. 1 vol. Masson et Cie, Ed. Paris 1963.

56. Cohen (Y.). — Exposé général sur la méthode radiopharmacologique. Symposium sur les progrès des techniques nucléaires en pharmacodynamie. Saclay, 11-13 mars 1970, 1 vol. Masson et Cie Ed., Paris 1971.

57. Comar (C. L.). — Sulfur. Radioisotopes in biology and medicine : principles and practice. 1 vol. Mc Graw Hill Book Company Inc., New York - Toronto - Londres. 1955, 306-310.

58. Comar (C. L.). — Autoradiography. Radioisotopes in biology and medicine : principles and practice. Mc Grow Hill Book Company Inc., New York - Toronto - Londres, 1955, 324-359

59. Crefeld (W. H.). — On some improvements in the preparation of high resolution autoradiography by the flat substrate method. J. Histochem. Cytochem., 1972, **32**, 281-284.

60. Crevie (M.) et Belanger (L. F.). — Démonstration par électrophorèse et autoradiographie d'une sulfomucoprotéine synthétisée à l'aide de radiosulfate par la glande gastrique du rat. C. R. Soc. Biol., 1954, **148**, 1530-1534.

61. Czerniak (P.). — Radionuclides in medicine and biology - Part I - Diagnosis. Tel Ashomer, 1970, 142-164.

62 Damron (B.L.) et Harms (R. H.). — Partial replacements of sulfur amino acids in layer diets with sodium sulfate. Poultry Sci., 1973, **52**, 400-402.

63. Deminatti (M.). — Etude de l'incorporation du $^{35}SO_4Na_2$ dans les cellules thyréotropes après thyroïdectomie chez la souris. C. R. Soc. Biol., 1972, **166**, 1316-1322.

64. Deminatti (M.), Degand (P.) et Havez (R.). — Etude biochimique des composés radiosulfatés dans la préhypophyse de Cyprin (Carassius auratus L.) après injection de $^{35}SO_4\ Na_2$. — C. R. Soc. Biol., 1972, **166**, 1311-1323.

65. Diab (I. M.) et Roth (L. J.). — Autoradiography of freeze -dried marrow, spleen, cartilage and undecalcified bone. J. Reticuloendoth. Soc., 1973, **12**, 503-513.

66. Doniach (I.) et Pelc (S. R.). — Autoradiograph technique. Brit. J. Radiol., 1950, **23**, 184-192.

67. Doniach (I.), Alma Howard (H.) et Pelc (S. R.). — Autoradiography. Progress in biophysics and biological chemistry, 1 vol., J. A. V. Butler and J. T. Randall. London, Pergamon Press Ltd, 1953, 1-26.

68. Dörmer (P.). — Pratique du comptage photométrique des grains d'argent dans l'autoradiographie. Informations - Recherche et Technique - E. Leitz - France 1968, 1, 201-224.

69. Downes (A. M.). — On the mechanism of incorporation of ^{35}S cystine in wool. Austr. J. biol. Sci., 1961, **14**, 109-119.

70. Downes (A. M.) et Lyne (A. G.). — Studies on the rate of wool growth using ^{35}S cystine. Austr. J. biol. Sci., 1961, **14**, 120-130.

71. Droz (B.). — Metabolic information derived from radioautography. Handbook of Neurochemistry - Vol. II : structural neurochemistry. Pergamon Press-New York-London, 1969.

72. Droz (B.) et Larra (F.). — Apports de la radioautographie aux études pharmacodynamiques. Symposium sur les phénomènes des techniques nucléaires en pharmacodynamie. Saclay, 11-13 mars 1970, p. 93-99, Masson et C^ie^ Ed., 1 vol., Paris, 1971.

73. Duncombe (W. G.). — An autoradiographic method for distinguishing samples labelled with phosphorus-32 and sulphur-35. Nature, 1959, , 349.

74. Duval (C.). — Le soufre. Que sais-je ? 1 vol. PUF Paris, 1967.

75. Dziewiatkoski (D. D.). — Isolation of chondroïtin sulfate ^{35}S from articular cartilage of rats. J. biol. Chem., 1951, **189**, 187-190.

75. Dziewiatkowski (D. D.). — Radioautographic visualization of sulfur 35 disposition in the articular cartilage and bone of suckling rats following injection of labelled sodium sulfate. J. exp. Med., 1951, **93**, 451-458.

77. Dziewiatkowski (D. D.). — Utilization of sulfate sulfur in the rat for the synthesis of cystine. J. biol. Chem., 1954, **207**, 181-186.

78. Dziewiatkowski (D. D.). — Turnover of ^{35}S sulfate in the mucosa of gastrointestinal tract of rats as seen in autoradiograms. J. biophys. biochem. Cytol. U.S.A., 1956, **2**, 29-32.

79. Dziewiatkowski (D. D.). — Autoradiographic studies with ^{35}S sulfate. Int. Rev. Cytol., 1958, **7**, 159-193.

80. Eisenstein (R.), Larsson (S. E.) et Sorgente (N.). — Collagen-proteoglycan relationships in epiphyseal cartilage. Am. J. Pathol., 1973, **73**, 443-456.

81. England (J. M.), Rogers (A. W.) et Miller (R. G.). — The identification of labelled structures on autoradiographs. Nature, 1973, **242**, 612-613.

82. Erwall (L. G.) et Westermak (T.). — Stereo autoradiography. Int. J. appl. Rad. Isotopes, 1960, **9**, 119-120.

83. Evans (T.C.). — Selection of radioautographic technique for problems in biology. Nucleonics, 1948, **2**, 52-58.

84. Evans (T. C.). — Radioautoradiography in which the tissue is mounted directly on the photographic plate. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1947, **64**, 313-315.

85. Evans (E. A.). — Purity and stability of radiochemical tracers in autoradiography. J. Microscopy, 1972, **96**, 165-180.

86. Evans (T. C.) et Mc Ginn (W. E.). — A method for preparing radioautographs with adjacent sections. Cancer Res., 1953, **13**, 661-665.

87. Feland (B.), Fuqua (E. G.) et Smith (J. T.). — Effect of dietary sulfur on serum cholesterol and the glycocholic : taurocholic acid ratio of the rat[102]. J. Nutr., 1973, **103**, 1561-1565.

88. Ficq (A.). — Autoradiography. The Cell, 1959, vol. 1, 67-90. Academic Press, New York and London.

89. Figura (K. V.), Born (W.) et Buddecke (E.). — ^{14}C and ^{35}S-SO_4 metabolism of acid glycosaminoglycans in bovine heart valves. Angiologica, 1973, **10**, 129-141.

90. Fitzgerald (P. J.). — The use of radiographic technique in pathology. Bull. New York, Acad. Med., 2^{e} série, 1952, **28**, 680-683.

91. Flanigan (S.), Gabrieli (E. R.) et Mac Lean (P. D). — Cerebral changes revealed by autoradiography with ^{35}S labelled L methionin. A.M.A. Arch. Neurol. Psychol., 1957, **77**, 588-594.

92. Friberg (V.) et Ringertz (N. R.). — Autoradiographic study with ^{35}S in the development of rat embryo. Experientia, 1954, **10**, 67-68.

93. Gabe (M.). — Techniques histologiques. Masson et C^{ie} Ed., 2 vol., Paris, 1968, 298-302.

94. Gahan (P. B.). — Autodiography for biologists. Acad. Press. New York and London, 1 vol., 1972, 124.

95. Gaull (G.), Sturman (J. A.) et Raiha (N. C. R.). — Development of mammalian sulfur metabolism : absence of cystathionase in human fetal tissues. Pediat. Res., 1972, **6**, 538-547.

96. Gelman (R. A.) et Blackwell (J.). — Interactions between mucopolysaccharides and cationic polypeptides in aqueous solution : chondroitin 4-sulfate and dermatan sulfate. Biopolymers, 1973, **12**, 1959-1974.

97. George (L.). — Electron microscopy and autoradiography. Science, 1961, **133**, 1423-1424.

98. Getsel (Kh. A.). — A simplified method of using standards for quantitative autoradiography Biofizika SSSR, 1961, **6**, 219-227.

99. Giulianelli (J. L.) et Willard (J. E.). — Chemical states of sulfur-35 formed by the ^{35}Cl (n.p.) ^{35}S process in Potassium chloride. J. phys. Chem., 1974, **78**, 372-374.

100. Glasson (B.). — Plan expérimental du métabolisme des médicaments et ses points d'impact. Symposium sur les progrès des techniques nucléaires en pharmacodynamie. Saclay, 11-13 mars 1970, Masson et C^ie^ Ed., 1 vol., Paris 1971.

101. Godard (H.). — Les mucopolysaccharides de l'os et du cartilage. C. R. Ass. Anat., 1951, **38**, 543-556.

102. Godard (H.). — Les mucopolysaccharides de l'os folliculinique. C. R. Ass. Anat., 1952, **39**, 81-83.

103. Godard (H.). — Complexes polysaccharido-calciques de la zone d'érosion du cartilage et des métastases. C. R. Ass. Anat., 1953, **40**, 239-243.

104. Gothie (S.). — Répartition du ^{32}P et du ^{35}S dans le tractus digestif et génital de lapine. Sem. Hôp., 1955, **61**, 305-306.

105. Gowers (D. S.) et Miller (R. E.). — Use of transparent adhesive tape in the preparation of microsection. Nature, 1961, **190**, 424-425.

106. Gros (C. M.), Cuer (P.) et Gegauff (C.). — Sur quelques possibilités de la méthode des traceurs histophotographiques. C. R. Soc. Biol., 1953, **147**, 1298-1301.

107. Gross (J.), Bogoroch (R.), Nadler (N. J.) et Leblond (C. P.). — The theory and methods of the radioautographic localization of radio-elements in tissues. Am. J. Roentgenol., 1951, **65**, 420-458.

108. Guegen (L.) et Besancon (P.). — Influence des sulfates sur le métabolisme phospho-calcique. I-Utilisation du sulfate de calcium par le mouton. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 1972, **12**, 589-598.

109. Hackman (C. R.) et Vapaatalo (H.). — Reproducible chemography in autoradiographs of rat brain. Experientia, 1972, **28**, 492-493.

110. Hammarstrom (L.), Appelgren (L. E.) et Ullberg (S.). — Improved method for light microscopy autoradiography with isotopes in water-soluble form. Exp. Cell. Res., 1965, **37**, 608-613.

111. Han (S. S.) et Kim (M. K.). — An improved method for double - isotope and double - emulsion radioautography with epoxy resin sections. Stain Technol., 1972, **47**, 291-296

112. Hanson (M. A.) et Marzluf (G. A.). — Regulation of a sulfur-controlled protease in Neurospora crassa. J. Bact., 1973, **116**, 785-789.

113. Hendrickson (A.), Moe (L.) et Noble (B.). — Straining for autoradiography of the central nervous system. Stain Technol., 1972, **47**, 283-290.

114. Hert (J.), Mertl (F.) et Babicky' (A.). — Reaction of bone to mechanical stimuli incorporation of ^{45}Ca and ^{35}S into rabbit tibia subjected to intermittent stress. Physiol. bohemoslov., 1971, **20**, 575-581.

115. Hertz (R. H.). — Methods to improve the performance of stripping emulsions. Lab. Invest., 1959, **8**, 71-81.

116. Hillman (N.) et Tasca (R. J.). — Ultrasctructural and autoradiographic studies of mouse cleavage stages. Am. J. Anat., 1969, **126**, 151-174.

117. Hjertquist (S. O.) et Lemperg (R.). — Transplantation of autologous costal cartilage to an osteochondral defect on the femoral head. Histological and autoradiographical studies in adult rabbits after administration of ^{35}S sulfate and ^{3}H thymidine. Virch. Arch. Abt. Path. Anat., 1969, **346**, 345-360.

118. Hjertquist (S. O.) et Lemperg (R.). — Long term observations on the articular cartilage and autologous costal cartilage transplanted to osteochondral defects on the femoral head. A histological, autoradiographic (^{35}S-sulfate) and microchemical (Glycosaminoglycan) study in adult rabbits. Calc. Tiss. Res., 1972, **9**, 226-237.

119. Holt (W. W.) et Warren (S.). — Freeze-drying tissues for autoradiographic study. Lab. Invest., 1953, **2**, 1-14.

120. Huang (T.). — Histological autoradiogram of soluble compounds. Int. J. appl. Rad. Isot., 1960, **8**, 233-236.

121. Inaba (S.). — Studies on metabolism in the rabbit nutrition. VIII : an experiment using ^{35}S tracer. J. Agri. Sci. Tokyo-Naya Daigaku, 1971, **15**, 154-161.

122. Jansen (G. S. I. M.), Van Elk (R.) et Van Kempen (G. M. J.). — Developmental patterns of sulphate activation and phenolsulphotransferase in rat brain. J. Neurochem., 1973, **20**, 9-12.

123. Jansen (M. T.). — A simple scanning cytophotometer. Histochemie, 1961, **2**, 342-347.

124. Jeanloz (R. W.). — Constitution chimique des polysaccharides du tissu conjonctif. Colloque sur la biochimie du tissu conjonctif. Exposés annuels de Biochimie Médicale, 1 vol., Masson et C^{ie}, Paris 1963, 1-16.

125. Joftes (D. L.) et Warren (S.). — Simplified liquid emulsion radioautography. J. Biol. phot. Assoc., 1955, **23**, 145-150.

126. Joftes (D. L.). — Liquid emulsion autoradiography with tritium. Lab. Invest., 1959, **8**, 131-138.

127. Johnson (W. H.), Goodrich (R. D.) et Meiske (J. C.). — Metabolism of three forms of sulfur by lambs. J. anim. Sci., 1970, **31**, 350.

128. Johnson (W. H.), Goodrich (R. D.), Meiske (J. C.) et Kahlon (T. S.). — Plasma levels and excretion of ^{35}S from three chemical forms of sulfur by lambs. J. anim. Sci., 1970, **31**, 1003-1009.

129. Johnston (P. M.) et Comar (C. L.). — Autoradiographic studies of the utilisation of ^{35}S sulfate by the chick embryo. J. biophys. biochem. Cytol., 1957, **3**, 231-238.

130. Jones (S. R.), Stair (E. L.), Glaiser (C. A.) et Bridges (C. H.). — Use of whole body, sagittal, paraffin sections of infant mice for immunofluorescent and histopathologic studies. Am. J. vet. Res., 1971, **32**, 1137-1142.

131. Judd (J. T.) et Wexler (B. C.). — Sulphur 35 uptake in acid mucopolysaccharides of the rat heart following injury. Am. J. Physiol., 1973, **224**, 312-317.

132. Kalberer (F.). — A new method of macroautoradiography. Adv. Methodology, 1966, **139**, 139-17.

133. Kanemitsu (A.). — Etude quantitative de la neurogenèse dans la moelle épinière chez le poulet par l'autoradiographie. Proc. Japan Acad., 1972, **48**, 758-763.

134. Kellershohn (C.) et Pellerin (P.). — Sur la mise en évidence par une méthode photographique externe de la localisation et de la distribution d'un corps radioactif dans l'organisme. C. R. Soc. Biol. 1954, **148**, 1194-1195.

135. Kleine (T. O.). — Biosynthesis of chondroitin sulfate proteins isolation of four pools of chondroitin sulfate-proteins differing in their solubility and labeling rates with radiosulfate in calf rib cartilage. Febs Letters, 1973, **31**, 170-174.

136. Konischi (T.), Baba (S.) et Sone (H.). — Whole body autoradiographic study of vitamin K distribution in rat. Chem. Pharm. Bull., 1973, **21**, 220-224.

137. Kopriwa (B. M.) et Leblond (C. P.). — Improvements in the coating technique of radioautography. J. Histochem. Cytochem., 1962, **10**, 260-284.

138. Kopriwa (B. M.). — A semiautomatic instrument for the radioautocoating technique. J. Histochem. Cytochem., 1967, **14**, 923-928.

139. Kopriwa (B. M.). — The influence of development on the number and appearance of silver grains in electron microscopic radioautography. J. Histochem. Cytochem., 1967, **15**, 501-515.

140. Kopriwa (B. M.) et Huckins (C.). — A method for the use of Zenker-formol fixation and the periodic acid Schiff staining technique in light microscope radioautography. Histochem., 1972, **32**, 231-244.

141. Kosakai (H.). — Epoxy embedding sectioning and staining of plant material for light microscopy. Stain Technol., 1973, **48**, 111-115.

142. Kremer (G.). — Auto-histo-radiographie. Th. Doct. vét., Toulouse, 1971, 75 p.

143. Kun (E.). — Selected aspects of sulfur metabolism. Metabolic pathways. Third edition, D. M. Greenberg. Academic Press, New York, London, 1969, **3**, 375-401.

144. Kutzim (H.). — Die quantitative Bestimmung der Verteilung von ^{35}S Sulfat beider Mous mittels Autoradiographie. Nucl. Med., 1962, **3**, 39-50.

145. Lacassagne (A.) et Lattes (J. S.). — Méthode auto-histo-radiographique pour la détection dans les organes du polonium injecté. C. R. Acad. Sci., 1924, **178**, 488-490.

146. Lacroix (M.), Busset (R.) et Mach (R. S.). — Utilisation comparative du soufre 35 et du brome 82 pour la détermination du volume de l'eau extracellulaire. *Helv. Med. Act.*, 1965, **32**, 87-134.

147. Langlands (J. P.) et Sutherland (H. A. M.). — Sulfur as a nutrient for Merino sheep. I - Storage of sulphur in tissues and wool, and its secretion in milk. Br. J. Nutr., 1973, **30**, 529-535.

148. Langlands (J. P.), Sutherland (H. A. M.) et Playne (M.). — Sulphur as a nurient for Merino sheep. II - The utilization of sulphur in forage diets. Br. J. Nutr., 1973, **30**, 537-543.

149. Lau (P.), Gottlieb (A. J.) et Williams (W. J.). — Mucopolysaccharide sulfation in normal and leukemic leukocytes. Blood, 1972, **40**, 725-732.

150. Lemperg (R. K.). — Osteochondral grafts in growing rabbits. Histological, autoradiographic (^{35}S sulphate), microangiographic, microradiographic and fluorochromic studies. Virch. Arch. Abt. A. Path. Anat., 1972, **357**, 113-124.

151. Lestradet (H.), Frederich (A.) et Rodriguez-Soriano (J.). — L'hypersulfatémie n'est-elle pas la cause des ostéodystrophies de l'insuffisance rénale chronique ? Presse Méd., 1962, **70**, 211-212.

152. Lev (R.) et Spicer (S. S.). — Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. J. Histochem. Cytochem., 1964, **12**, 309-317.

153. Levi (H.). — Quantitative β-track autoradiography of single cells. Exp. Cell. Res., 1954, **7**, 44-51.

154. Levi (H.) et Hogben (A. S.). — Quantitative β-track autoradiography with nuclear track emulsion. Dann. Mat. Fys. Medd., 1955, **30**, 3-23.

155. Liav (Y. H.), Horowitz (M. I.). — Presulfation of sulfated polyanions by rat gastric mucosa. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1973, **144**, 13-16.

156. Linde (A.). — Glycosaminoglycans of the dental pulp. A biochemical study. Gothenburg, 1973, 25 p.

157. Linde (A.). — Glycosaminoglycan turnover and synthesis in the rat incisor pulp. Scand. J. dent. Res., 1973, **81**, 145-154.

158. Linde (A.). — A study of the dental pulp glycosaminoglycans from permanent human teeth and rat and rabbit incisors. Archs. oral Biol., 1973, **18**, 49-59.

159. Lindquist (N. G.) et Ullbert (S.). — The melanin affinity of chloroquine and chlorpromazine studied by whole body autoradiography. Acta Pharmacol. Toxicol., 1972, **31**, suppl. II, 3-32.

160. Liss (R. H.), Lindsay (D. B.) et Catchpole (C. E.). — Rapid generation of whole body radioautograms with microchannel plate electron image amplifiers. Nature, 1973, **242**, 523-525.

161. Lohmander (S.), Antonopoulos (C. A.) et Friberg (U.). — Chemical and metabolic heterogeneity of chondroitin sulfate and keratan sulfate in guinea pig cartilage and nucleus pulposus. Biochem. biophys. Acta, 1973, **304**, 430-448.

162. Loiseleur (J.). — Techniques de laboratoire. 2 vol., Masson et Cie, Paris 1963.

163. Lotz (W. E.) et Johnston (P. M.). — Preparation of micro-autoradiographs with the use of stripping film. Nucleonics, 1953, **11**, 54.

164. Louisot (P.). — Biochimie structurale. Tome I : Les glucides. 1 vol. Simep éd. Villeurbanne, 1973.

165. Lovelock (J. E.), Maggs (R. J.) et Rasmussen (R. A.). — Atmospheric dimethyl sulphide and the natural sulphur cycle. Nature, 1972, **237**, 452-453.

166. Lust (G.) et Sherman (D. M.). — Metabolic and ultrastructural studies on articular cartilage of developing canine hip joints. Cornell vet., 1973, **63**, 94-105.

167. Mantel (J.). — The beta ray spectrum and the average beta energy of several isotopes of interest in medicine and biology. Int. J. appl. Rad. Isot., 1972, **23**, 407-413.

168. Marckmann (A.). — Autologous skin grafts in the rat-uptake of ^{35}S sulfate. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1965, **119**, 557-560.

169. Marcus (R. E.). — The effect of low oxygen concentration on growth, glycolysis, and sulfate incorporation by articular chondrocytes in monolayer culture. Arthritis and rhumatism, 1973, **16**, 265-279.

170. Marzluf (G. A.). — Genetic and metabolic control of sulfate metabolism in Neurospora crassa : a specific permease for choline-o-sulfate, Biochem. Genet., 1972, **7**, 219-233

171. Marzluf (G. A.). — Control of the synthesis, activity, and turn-over of enzymes of sulfur metabolism in Neurospora crassa. Arch. Biochem. Biophys., 1972, **150**, 714-724.

172. Marzluf (G. A.). — Regulation of sulfate transport in Neurospora by transinhibition and by inositol depletion. Arch. Biochem. Biophys., 1973, **156**, 244-254.

173. Mc Cready (R. G. L.) et Din (D. A.). — Active sulfate transport in Saccharomyces. Febs Letters, 1974, **38**, 361-363.

174. Mc Lean (S.). — An autoradiographie effect. Nature, 1961, **191**, 690-692.

175. Mc Queen (C. M.), Monk (I. B.), Horton (P. W.) et Smith (D. A.). — Preparation of undecalcified bone sections for auto and microradiography. Calc. Tiss. Res., 1972, **10**, 23-30.

176. Medenwald (H.). — Recherches sur le métabolisme et les résidus. Inform. Méd. vét., 1973, **1**, 32-41.

177. Meier (S.) et Hay (E. D.). — Synthesis of sulfated glycosaminoglycans by embryonic corneal epithelium. Developmental Biology, 1973, **35**, 318-331.

178. Merzel (J.), Almeida (M. L. P.). — Maturation of goblet of the mouse small intestine as shown by the uptake of ^{35}S Sodium sulfate. Anat. Rec., 1973, **177**, 519-524.

179. Messier (B.) et Leblond (C. P.). — Preparation of coated radioautographs by dipping sections in fluid emulsion. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1957, **96**, 7-10.

180. Meyer (C. C.) et Meyer (O. W.). — Methods for brain autoradiography. Physiol. Behav., 1973, **11**, 265-267.

181. Miller (O. L.), Stone (G. E.) et Prescott (D. M.). — Autoradiography of soluble materials. J. Cell. Biol., 1964, **3**, 654-658.

182. Miyaji (H.) et Misaki (A.). — Distribution of sulfate groups in the partially sulfated dextrans. J. Biochem., 1973, **74**, 1131-1139.

183. Mooney (C. L.) et Haines (T. H.). — Chlorination and sulfation reactions in the biosynthesis of chlorosulfolipids in Ochromonas danica, in vivo. Biochemistry, 1973, **12**, 4469-4472.

184. Moricard (R.), Gothie (S.) et Belaisch (J.). — De l'utilisation du soufre radioactif (^{35}S) pour l'étude de la sécrétion muqueuse cervicale et de certaines modifications spermatiques. Bull. Féd. Soc. Gyn. Obst., 1957, **9**, 15-18.

185. Murphy (B.), Dossetor (J. B.) et Beck (J. C.). — Serial determinations of extracellular fluid volume using the radiosulphate space method. Canad. J. Biochem. Physiol., 1963, **41**, 497-510.

186. Myers (H. M.), Jennings (E.) et Becks (H.). — A rapid radioautographic technique for combined calcified and soft tissues. J. dent. Res., 1952, **31**, 416-420.

187. Nelson (B.) et Pritchard (B.). — Autoradiography with polaroïd film. Beitr. Path. Bd., 1973 **149**, 206-210.

188. Niepce de Saint-Victor. — Sur une nouvelle action de la lumière. C. R. Acad. Sci., 1867, **€5**, 505-507.

189. Nunn (J. R.), Parolis (H.) et Russel (I.). — Sulphated polysaccharides of the Solieriaceae family. Part II - The acidic components of the polysaccharide from the red alga : Anatheca dentala. Carbohydrate Res., 1973, **29**, 281-289.

190. Odeblad (E.) et Bostrom (H.). — An autoradiographic study of the incorporation of ^{35}S labelled sodium sulfate in different organs of adult rats and rabbits. Acta pathol. microbiol. Sand., 1952, **31**, 339-344.

191. Oja (H. K.), Oja (S. S.) et Hasan (J.). — Calibration of stripping film autoradiography in sections of rat liver labelled with tritium. Exp. Cell. Res., 1966, **45**, 1-10.

192. Okayama (M.), Kimata (K.) et Suzuki (S.). — The influence of p. Nitrophuryl -D-xyloside on the synthesis of proteochondroïtin sulfate by slices of embryonic chick cartilage. J. Biochem., 1973, **74**, 1069-1073.

193. Olivereau (M.). — Influence de quelques colorants en histo-autoradiographie. Bull. Micr. appl., 1956, **6**, 100-105.

194. Pal (M. K.) et Nath (J.). — Separation of hyaluronate, chondroitin sulfate, and heparin by adsorption-desorption technique. Anal. Biochem., 1974, **57**, 395-402.

195. Palmeg. — Histoautoradiographie. Med. Lab. Stuttgart, 1967, **20**, 188-195.

196. Palmgren (A.). — Tape for microsectioning of very large, hard or brittle specimens. Nature, 1954, **174**, 46.

197. Pelc (S. R.) — Autoradiograph technique. Nature, 1947, **29**, 741-750.

198. Pelc (S. R.) et Howard (A.). — Techniques of autoradiography and the application of the stripping-film method to problems of nuclear metabolism. Brit. med. Bull., 1952, **8**, 132-135.

199. Pelc (S. R.). — The stripping-film technique of autoradiography. Int. J. appl. Rad. Isot., 1956, **1**, 172-177.

200. Pelc (S. R.). — Sensibility and resolving power of radioautographs. Biochem. J., 1962, **85**, 26 P.

201. Pelc (S. R.) et Welton (M. G. E.). — Quantitative evaluation of tritium in autoradiography and biochemistry. Nature, 1967, **216**, 925-927.

202. Pellerin (P.). — La technique d'autoradiographie à très basse température. C. R. Acad. Sci., 1957, **244**, 1555-1558.

203. Pellerin (P.). — Technique d'autoradiographie à très basse température. Int. J. appl. Rad. Isotopes, 1957, **2**, 258-264.

204. Plesse (D.) et Ludicke (M.). — Radioactive labelling of the melanin pigment in fish skin with (^{35}S) sodium sulphate. E. Naturforsch., 1974, **29**, 42-47.

205. Queisser (W.). — The combined application of cytophotometric and autoradiographic methods in the study of the proliferation of normal and disturbed human heamopoietic cell systems. Klin. Wschr., 1973, **51**, 687-694.

206. Razafimahery (R.). — La physiologie du soufre dans les divers aspects du métabolisme. Th. Doct. Sc. Strasbourg, 1935.

207. Richter (M. E.). — Use of a microtome-cryostat for precision cutting of serial sections of paraffin-embedded tissues. Stain Technol., 1973, **48**, 2.

208. Rico (A. G.), Godfrain (J. C.), Lorgue (G.) et Burgat-Sacaze (V.). — Mesure des secteurs hydriques chez différentes espèces animales à l'aide de radioéléments. Colloque sur l'emploi des isotopes radioactifs dans les études sur la physiologie des animaux domestiques. Athènes, 20-24 mars 1972, 1 vol., I.A.E.A. Vienne 1972, 63-72.

209. Rico (A. G.), Godfrain (J. C.), Burgat-Sacaze (V.), Benard (P.) et Braun (J. P.). — Etude du métabolisme du cholestérol marqué au ^{14}C chez le poussin. Colloque sur l'emploi des isotopes radioactifs dans les études sur la physiologie des animaux domestiques. Athènes, 20-24 mars 1972, 1 vol. I.A.E.A. Vienne 1972, 329-334.

210. Rico (A. G.), Godfrain (J. C.), Benard (P.), Burgat-Sacaze (V.) et Braun (J. P.). — Contribution à l'étude du métabolisme chez la souris du sulfate de sodium marqué à l'aide du radiosulfate ^{35}S. Note I : Etude autoradiographique. Ann. Rech. vétér., 1973, **4**, 235-240.

211. Riddel (P.) et Bier (A. M.). — Electrophoresis of ^{35}S labelled material released from clumping platelets. Nature, 1965, **205**, 711-712.

212. Ritzen (M.), Hammarstrom (L.) et Ullberg (S.). — Autoradiographic distribution of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxytryptophan in the mouse. Bioch. Pharm., 1965, **14**, 313-321.

213. Ritzen (M.). — A method for the autoradiographic determination of absolute specific radioactivity in cells. Exp. Cell. Res., 1967, **45**, 250-252.

214. Roets (E.) et Vanderhaeghe (H.). — Titrimetric determination of sulphate in pharmaceutical products. J. Pharmac., 1972, **24**, 795-797.

215. Rogers (A. W.). — La microscopie des autoradiographies. Information-Recherche et Technique. E. Leitz France, 1965, **3**, 61-92.

216. Rogers (A. W.). — Techniques of autoradiography. Elsevier publishing company, Amsterdam-Londres-New York, 1969, 338 p.

217. Roncucci (R.), Lambelin (G.), Simon (M. J.) et Soudyn (W.). — Simultaneous liquid scintillation determination of tritium and sulfur 35 in biological low-level samples using the oxygen flask method. Ann. Biochem. U.S.A., 1968, **26**, 118-136.

218. Rosenthal (H. L.). — The uptake und turnover of ^{35}S sulfate by Lebistes. Biol. Bull., 1961, **120**, 183-191.

219. Roth (L. J.) et Stumpf (W. E.). — Autoradiography of diffusible substances. 1 vol. Academic Press New York London, 1969, 371 p.

220. Russel (R. S.), Snaders (F. K.) et Bishop (O. N.). — Preparation of radioautographs to show the distribution of phosphorus-32 in plant tissues. Nature, 1949, **163**, 639-640.

221. Ryan (R. J.), Pascal (L. R.), Inoye (T.) et Bernstein (L.). — Experiences with radiosulfate in the estimation of physiologic extracellular water in healthy and abnormal man. J. clin. Invest., 1956, **35**, 1119-1130.

222. Rydberg (H.). — A method for microtomy difficult materials. Zeitsch. Mikroskopie, 1954, **62**, 341-342.

223. Salpeter (M. M.) et Bachmann (L.). — Autoradiography with the electron microscope. A procedure for improving resolution, sensitivity and contrast. J. Cell. Biol., 1964, **22**, 469-477.

224. Salpeter (M. M.) et Szabo (M.). — Sensitivity in electron microscope autoradiography. I - The effect of radiation dose. J. Histochem. Cytochem., 1972, **20**, 425-434.

225. Sasse (C. E.), Baker (D. H.). — Sulfur utilization by the chick with emphasis on the effect of inorganic sulfate on the cystine-methionine interrelationship. J. Nutr., 1974, **104**, 244-251.

226. Sasse (C. E.) et Baker (D. H.). — Availability of sulfur amino acids in corn and corn gluten meal for growing chicks. J. anim. Sci., 1973, **37**, 1351-1355.

227. Savoie (J. C.) et Jungers (P.). — Mesure de l'espace extracellulaire chez l'homme à l'aide de radiosulfate ^{35}S. Rev. franç. Etud. Chim. biol., 1965, **10**, 99-106.

228. Sawicki (W.) et Rowinski (J.). — Periodic acid Schiff reaction combined with quantitative autoradiography of ^{3}H thymidine or ^{35}S sulfate labelled epithelial cells of colon. Histochem., 1969, **19**, 288-294.

229. Schiff (J. A.) et Hodson (R. C.). — The metabolism of sulfate. Ann. Rev. Plant. Physiol., 1973, **24**, 381-423.

230. Schiller (S.). — Connective and supporting tissues : mucopolysaccharides of connection tissues. Ann. Rev. Physiol., 1966, **28**, 137-158.

231. Schlegel (D. E.) et de Zocten (G.). — Improved resolution in light microscope radioautography. J. Cell. Biol., 1967, **33**, 728-731.

232. Schmiterlow (C. G.) et Cohen (Y.). — Application de l'autoradiographie à l'étude cinétique de la fixation élective d'une substance médicamenteuse. Ann. Pharm. franç., 1957, **15**, 227-234.

233. Schmiterlow (C. G.) et Cohen (Y.). — L'autoradiographie, méthode d'étude de la répartition et de l'élimination d'un antiépileptique, le N benzyl(^{14}C)- -chloropropionamide, chez la souris. C. R. Soc. Biol., 1957, **151**, 507-510.

234. Schultze (B.). — Autoradiography at the cellular level. Physical techniques in biological research, 2nd ed., A. W. POLISTER, vol. III, part B, 1969, Acad. Press, New York-London, 52-56.

235. Schwartz (N. C.), Roden (L.) et Dorfman (A.). — Biosynthesis of chondroïtin sulfate : interaction between xylosyltransferase and galactosyltransferase. Biochem. biophys. Res. Comm., 1974, **56**, 717-723.

236. Schwoch (G.), Rudloff (V.), Wood-Guth (I.) et Passow (H.). — Effect of temperature on sulfate movements across chemically or enzymatically modified membranes of human red blood cells. Biochem. Biophys. Acta, 1974, **339**, 126-138.

237. Servoss (J. M.). — An in vivo and in vitro autoradiographic investigation of growth in synchondrosal cartilage. Am. J. Anat., 1973, **136**, 479-483.

238. Sharma (G. K.), Rock (G. C.) et Hodgson (E.). — Metabolism of sulphur aminoacids via the cystathionine pathway in Argyrotaenia velutinana larvae. J. Insect. Physiol., 1972, **18**, 1333-1341.

239. Shinger (H. G.), Marinelli (L.). — Distribution of the radioactive sulfur in the rat. Science, 1945, **101**, 414-415.

240. Silbermann (M.) et Frommer (J.). — Further evidence for the vitality of chondrocytes in the mandibular condyle as revealed by ^{35}S-sulfate autoradiography. Anat. Rec., 1972, **174**, 503-508.

241. Simon (F.). — Sur différentes préparations d'émulsions sensibles aux particules chargées. C. R. Acad. Sci., 1955, **241**, 1564-1567.

242. Smith (J. T.). — An optimal level of inorganic sulfate for the diet of a rat. J. Nutr., 1973, **103**, 1008-1011.

243. Sovari (T. E.) et Arvilommi (H. S.). — Some chemical, physical and histochemical properties of three diamine fractions obtained by gel chromatography from the high iron thiamine staining solution used for localizing sulphated mucosaccharides. Histochemical J., 1973, **5**, 119-130.

244. Spaeth (D. G.) et Schneider (D. L.). — Turnover of taurine in rat tissues. J. Nutr., 1974, **104**, 179-186.

245. Stumpf (W. E.) et Roth (L. J.). — High resolution autoradiography with dry mounted, freeze dried frozen sections. J. Histochem. Cytochem., 1966, **14**, 274-287.

246. Sturman (J. A.), Niemann (W. H.) et Graull (G. E.). — Metabolism of ^{35}S methionine and ^{35}S cystine in the pregnant rhesus monkey. Biol. neonat., 1973, **22**, 16-37.

247. Summer (B. E. H.) et Watson (W. E.). — A simple method for obtaining autoradiographs of single isolated neuroglial cells. J. Physyol., 1972, **222**, 119-120.

248. Swan (R. C.), Madisso (H.) et Pitts (R. F.). — Measurement of extracellular fluid volume in nephrectomized dogs. J. clin. Invest., 1954, **33**, 1447-1456.

249. Taugner (R.), Supply (P.), Braun (A.), Droh (R.) et Mahn (J.). — Zur Gefrierschnitt-Autoradiographie an ganzen Tier. Nucl. Med., 1963, **3**, 397-405.

250. Taylor (J. H.) et Taylor (S. H.). — The autoradiograph : a tool for cytogeneticists. J. Hered., 1953, **44**, 19-132.

251. Tonna (E. A.) et Cronkite (J.). — Factors which influence the latent image in autoradiography. Stain. Technol., 1958, **33**, 255-260.

252. Tonzetich (J.). — Determination of ^{35}S-labelled compounds of aqueous ionic solutions by liquid scintillation counting. Anal. Biochem., 1972, **47**, 584-591.

253. Tubaro (E.) et Bulgini (M. J.). — Autoradiographic method for investigating body distribution of antibacterial drugs. Nature, 1966, **212**, 1314-1316.

254. Tubaro (E.) et Bulgini (M. J.). — Whole body sagittal technique in mice employing a new bio-autographic method : its utility for the evaluation of the distribution of antibacterial drugs. Experientia, 1967, **23**, 310-311.

255. Ubios (A. M.) et Cabrini (R. L.). — Measurement of the activity in autoradiographic histologic sections. Int. J. appl. Rad. Isot., 1973, **24**, 311-314.

256. Ullberg (S.). — Studies on the distribution and fate of ^{35}-S-labelled benzylpenicillin in the body. Acta Radiol., 1954, suppl. 117, 1-110.

257. Ullberg (S.). — Autoradiographic studies on the distribution of labelled drugs in the body. Proceedings of the second United Nations International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy. 1 vol. United Nations, Geneva, 1958, 248-254.

258. Walser (M.). — Volume of distribution of radiosulfate as a measure of the extracellular fluid. Proc. Soc. exp. Biol., New York, 1952, **79**, 372-375.

259. Walser (M.), Seldin (D. W.) et Grollman (A.). — An evaluation of radiosulfate for the determination of the volume of extracellular fluid in man and dogs. J. clin. Invest., 1953, **32**. 299-311.

260. Waser (P. G.). — Histoautoradiography. Fundamental of biochemical pharmacology. 1 vol. Pergamon Press, London, 1971, 103-107.

261. Weavind (T. E. F.). — The relationship between the density of an autoradiograph and the concentration of the radioactive substance which produced it. Agrochemophysica, 1969, **1**, 93-96.

262. Weeth (H. J.) et Hunter (J. E.). — Drinking of sulfate water by cattle. J. anim. Sci., 1971, **32**, 277-281.

263. Wiebkin (O. W.) et Muir (H.). — The inhibition of sulphate incorporation in isolated adult chondrocytes by hyaluronic acid. Febs Letters, 1973, **37**, 43-46.

264. Williamson (J. R.) et Bosch (H. V. D.) — High resolution autoradiography with stripping film. J. Histochem. Cytochem., 1971, **19**, 304-309.

265. Winteringham (F. P. W.), Harrison (A.) et Hammond (S. H.). — Autoradiography of water soluble tracers in histological sections. Nature, 1950, **165**, 149-150.

266. Witten (U. H.) et Holmstrom (V.). — New histologic technics for autoradiography. Lab. Invest., 1953, **2**, 368-373.

267. Wood (G. H.). — Some causes of artefacts in autoradiography and their elimination. S. Afr. J. agric. Sci., 1967, **10**, 555-558.

268. Young (M. E.) et Mc Carter (J. A.). — The measurement of radioactive sulphur (^{35}S) in biological material. Biochem. J., 1949, **44**, 179-185.

269. Young (R. W.). — The role of the Golgi complex in sulfate metabolism. J. Cell. Bioil., 1973, **57**, 175-189.

270. Zajdela (F.). — Une nouvelle technique autohistoradiographique. J. Radiol. Elect., 1952, **33**, 549-551.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 13

LES TECHNIQUES AUTORADIOGRAPHIQUES 15

1. — Définition 15
2. — Historique 15
3. — Le processus photographique en autoradiographie 16
4. — Technique 19
5. — La résolution en autoradiographie 25

ÉTUDE DU MÉTABOLISME DE L'ION SULFATE MARQUÉ AU SOUFRE 35 29

1. — Protocole expérimental 29
2. — Résultats 31
3. — Interprétation — Discussion 45

Conclusion 51

Résumé 53

Bibliographie 81

IMPRIMERIE MAURICE ESPIC
13, RUE GONZALEZ - 31400 TOULOUSE

DÉPOT LÉGAL :
DEUXIÈME TRIMESTRE 1975

Numéro imprimeur : 75 18